Vol. III Ottobre 1931 - A. IX Fasc. X

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

BOLLETTINO

DELLA

SEZIONE ITALIANA

SOMMAIRE

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

SEZIONE ITALIANA

Segue ELENCO DEGLI ADERENTI.

331 - Clerici dott. Carlo, Via Donizetti, 38, *Milano.*

332 - Ficai prof. Giuseppe, Laboratorio d'Igiene, *Arezzo.*

333 - Pertusio dott. Luigi Ferdinando, Laboratorio Prov. d'Igiene, *Cremona.*

IV° Congresso della Sezione Italiana della Società Internaz. di Microbiologia

Novembre 1932

La Presidenza della Sezione Italiana della Società Internazionale di Microbiologia ha fissato i temi di Relazione per il IV Congresso Nazionale, che avrà luogo nel mese di novembre 1932.

I temi prescelti sono:

Le dissociazioni microbiche. Relatore: Prof. GIANNI PETRAGNANI.

L'immunità locale. Relatore: Prof. GIUSEPPE MARIANI.

I microbi del terreno e la fissazione dell'azoto atmosferico. Relatore: Prof. GINO DE ROSSI.

Sarà inoltre svolto il seguente argomento all'ordine del giorno:

Le encefaliti postvacciniche. Relatore: Prof. G. B. ALLARIA.

Durante il Congresso saranno permesse comunicazioni, che trattino esclusivamente argomenti di relazione. La Segreteria della Società si riserva di non accettare quelle comunicazioni che a suo insindacabile giudizio non rispondano a questa condizione.

Le comunicazioni dovranno pervenire alla Segreteria della Sezione non oltre il 15 settembre 1932, essere dattilografate e redatte in lingua italiana o francese. Saranno inesorabilmente respinte quelle comunicazioni che pervenissero alla Segreteria dopo tale data.

I titoli delle varie comunicazioni saranno accettati a partire dalla pubblicazione del presente programma e fino al 31 agosto 1932.

Potranno fare comunicazioni anche studiosi stranieri purchè in lingua italiana o francese.

Una seduta del Congresso sarà dedicata al Comitato Italiano per lo studio dei gruppi sanguigni, che terrà in tale occasione la sua solita riunione.

Sarà discusso il seguente tema:

Gruppi sanguigni e costituzione fisica. Relatore: Dott. DOMENICO VIOLA.

Sono accettate sull'argomento anche delle comunicazioni, per le quali vigono le regole più sopra riferite.

La quota d'iscrizione al Congresso è fissata in Lit. 25 e dà diritto al volume degli Atti e a tutte le facilitazioni che la Segreteria riuscirà ad ottenere.

Per ogni ulteriore informazione rivolgersi ai Segretari Prof. DESSY e Prof. ARNAUDI, Via Darwin 20, Milano.

CALISTI E. - **Isolement du colibacille des fèces par le moyen de l'urotropine.**

Ayant découvert fortuitement une résistance particulière du colibacille a l'action de l'urotropine au point de tolérer dans les milieux de culture des concentrations de cette substance, capables au contraire d'empêcher le développement de la plupart des germes saprophytes de l'eau et de l'air, nous proposions, il y a quelque temps, d'ajouter l'hexaméthylènetétramine aux milieux de culture — même à celui de Endo — chaque fois qu'il s'agit de rechercher dans une eau le colibacille susdit. Ne voulant pas maintenant redire le mode de technique, d'ailleur strès simple, qu'on doit suivre et pour lequel nous renvoyons à notre première communication (1), nous répétons seulement que, selon nous, il était suffisant d'ajouter cc. 1,4 de solution à 10% d'urotropine, à cc. 10 du milieu de culture pour obtenir le développement normal du coli avec une extraordinaire diminution du nombre des germes concomitants. Après les recherches sur l'eau, nous avons voulu étudier si la méthode était aussi utilisable pour l'isolement du coli des fèces. Le problème était, cette fois, plus compliqué, étant donné que le contenu microbien est habituellement important dans la matériel en question. Cependant nous pouvons dire avoir obtenu des résultats que nous jugeons encourageants. Nous avons commencé les recherches sur les fèces d'individus normaux. Là nous avons constamment obtenu le développement, en colonies isolées, du colibacille tandis que les autres espèces saprophytes contenues dans les fèces subissaient une diminution numérique de 80 à 90%. Parallèlement, des recherches avaient été faites sur des terrains ordinaires sans addition d'urotropine: il était par conséquent facile d'établir dans quelle mesure l'action de l'urotropine avait été favorable au développement du coli et nuisible aux autres germes. Ici encore, comme on l'a déjà vu pour l'eau, nous pouvons ajouter que les souches de coli isolées sur milieu à l'urotropine, conservaient inaltérées toutes les caractéristiques du groupe à la différence de ce qui semble se passer quand on emploie d'autres substances à action empêchante proposées précédemment et par d'autres rechercheurs.

Ensuite, des recherches ont été faites sur des fèces de typhiques: il s'agissait de voir ici si l'isolement du colibacille avait été encore facilité par la présence de l'urotropine même au détriment des germes du typhus. Comme nous l'avons rapporté dans le précédent mémoire, nous avons vu que le bacille d'Eberth montrait *in vitro* une résistance plus

(1) « Diagnostica e Tecnica di Laboratorio », 1931, n. 6.

faible que celle du coli, à l'action de l'urotropine: il restait à voir si cela se maintenait aussi lorsque l'un et l'autre germe se trouvaient mélangés dans les fèces. Et nous avons pu confirmer ce que nous avions déjà constaté expérimentalement en faisant usage de cultures pures. L'addition de l'urotropine à la dite concentration favorise l'isolement du coli des fèces de typhiques empêchant le développement des germes du groupe du typhus ainsi que des germes saprophytes.

Tout ce que nous avons dit jusqu'ici se rapporte aux fèces d'origine humaine.

En dernier lieu, nous avons examiné quelques échantillons de fèces d'animaux et spécialement de boeufs, moutons et porcs. Les échantillons ont été prélevés au moment de la défécation pour être strictement certains de la provenance de la matière et pour s'assûrer que celle-ci ne soit mélangée à rien d'étranger. Ici encore nous notons, comme d'habitude, une extraordinaire diminution du nombre des germes, mais l'isolement du coli ne réussit pas. D'autre part, ayant cherché à obtenir, par d'autres moyens, quelques souches de coli de provenance animale aussi certaine, il nous a semblé voir que celui-ci ne résiste pas à la susdite concentration d'urotropine et pourtant ne donne lieu à aucun développement sur les milieux qui la contiennent. Puisque le fait de pouvoir promptement distinguer l'origine des colonies isolées de coli pourrait avoir un certain intérêt, même au point de vue hygiénique, la susdite supposition mérite d'être verifiée par des recherches ultérieures.

En conclusion, nous retenons que l'addition de l'urotropine aux terrains de culture est utile aussi pour la recherche du colibacille dans les fèces humaines, comme nous l'avons déjà affirmé pour la même recherche dans les eaux; toutefois, elle ne semble pas pouvoir s'appliquer aux fèces des animaux.

Laboratoire Médico-micrografique
de la Province de Pérouse.

CALISTI E. - **Dernières recherches sur un microrganisme isolé de l'eau.**

Récemment nous avons étudié un germe, isolé par nous mêmes de l'eau, par la méthode de l'agglutination à l'état naissant grâce à l'usage des immunsérums antitypho-parathyphique, et qui présentait des caractéristiques spéciales. Sans aller jusqu'à répéter tout ce qui a déjà été exposé dans la précédente étude (1), nous résumons ici brièvement: que le germe

(1) «La diagnosi», 1931.

présentait des caractères microscopiques et culturaux par lesquels il nous sembla juste de le classer dans le groupe *Proteus*, bien qu'il ne corresponde pas tout à fait à la description classique; qu'il était agglutiné par les immunsérums antitypho-paratyphique (spécialement par l'antiparatyphique B); qu'il présentait un particulier comportement du pouvoir pathogène sur les cobayes et les lapins: pour tous les deux il se montre en effet tellement virulent par voie endopéritoneale, qu'il en provoque la mort en 14-20 h.; qu'il perdait complètement sa virulence par ce simple passage sur l'animal; que les diverses souches successivement isolées de l'exsudat péritonéal, de la rate, de l'exsudation thoracique, du sang du coeur des animaux morts, tout en répondant par tous les caractères à la culture originale, n'exerçaient plus aucune action pathogène ni sur le cobaye ni sur le lapin, même de petite taille.

Après la publication de la première note, nous avons continué l'étude du germe soit pour acquérir d'ultérieurs caractères, soit pour tenter de découvrir la cause de l'étrange comportement de son pouvoir pathogène. Ainsi nous avons pu noter, en premier lieu, que l'on peut isoler le germe aussi du poumon de l'animal mort par infection expérimentale. Puis il nous a été possible de constater que le germe a peu de resistance par rapport au temps: des cultures, conservées d'une manière opportune, environ deux mois, sont devenues presque tout à fait stériles: les successives repiquages n'ont donné lieu a un développement que dans 4 cas sur 26. Les patines culturales, vieillies de cette façon, ont perdu petit à petit leur couleur blanche, pour prendre une pigmentation brune. Les 4 cultures vieillies, qui sont encore vivantes parce qu'il a été possible d'en obtenir un développement successif, ont perdu leur pouvoir pathogène. Elles le reprirent cependant tout de suite à leur premier repiquage sur le milieu de culture.

En outre, nous avons recherché le phénomène de Pfeiffer *in vivo*, en employant l'immunsérum specifique obtenu par l'inoculation intraveineuse de la culture morte dans le lapin: et nous avons pu constater que le phénomène de Pfeiffer procède paralèllement aux réactions d'agglutination, se vérifiant en plus par des dilutions plus élevées du sèrum (1/600–1/700).

Ensuite dans le but de mieux étudier comment se comporte le pouvoir pathogène du germe, il nous a semblé opportun d'observer si la virulence était en rapport éventuel avec l'âge de la culture et si des repiquages répétés et fréquents dans les milieux de culture donnaient éventuellement lieu à des modifications du pouvoir pathogène. Pour les cultures vieillies de deux mois nous avons rapporté ci-dessus qu'à la limite de leur vitalité elles ne conservent plus leur pouvoir pathogène; lequel cependant se présente à nouveau dans les repiquages successifs sur les milieux culturals.

Ensuite, nous avons fait, en partant d'une même souche originale, deux groupes distincts de cultures: pour le premier groupe nous avons fait des repiquages hebdomadaires, pour l'autre, quotidiens. À la fin de la semaine, en procédant par inoculations endopéritonéales de l'une et l'autre culture, il n'était pas possible de mettre en évidence une difference dans leurs pouvoirs pathogènes. Et cependant le repiquage quotidien dans les milieux culturals n'excite ni diminue la virulence du germe.

Nous avons enfin tenté de préciser la manière de procéder de l'infection expérimentale dans le cobaye. Ainsi, ayant procédé à l'inoculation endoperitonéale de la culture, à des espaces de temps réguliers de l'inoculation on fit des prélèvements de sang du coeur et d'exsudat péritonéal. Sur de tels matériaux on pratiquait des épreuves de culture et, quand celles-ci donnaient un résultat positif, on procédait à des inoculations ultérieures sur les cobayes pour contrôler le pouvoir pathogène. Des recherches jusqu'ici entreprises à ce propos, il résulte: à 1 h 30′–1 h 50′ de l'inoculation le germe a déjà passé dans la circulation et il est facile de l'isoler du sang dù coeur. La culture qui en provient est pathogène, et aussi celle que l'on a obtenu à ce moment de l'exsudat péritonéal. Cette dernière même présente une virulence augmenté, tuant le cobaye en moins de 8 h (tandis que la culture primitive tue le cobaye, comme on l'a déjà dit dans la précédente étude, en moins de 14 h). Environ 6 h après l'inoculation, il est encore possible d'isoler le germe autant du sang du coeur que de l'exsudat péritonéal: il conserve son pouvoir pathogène, qui pourtant va s'atténuer de sorte qu'il exige 23 h pour tuer l'animal. Les isolements culturaux pratiqués au contraire après la mort ont, comme on l'a déjà dit, perdu complètement leur virulence. Nous n'avons pas réussi à démontrer si, avant la mort, il existe un moment où la culture isolée de l'animal en expérimentation, présente le même phénomène que les cultures isolées *post-mortem*: c'est-à-dire la perte du pouvoir pathogène.

Enfin nous avons pu noter que les animaux inoculés avec des cultures isolées des autres animaux morts (et dépourvues pour cette raison de pouvoir pathogène), acquièrent une résistance particulière à l'action de la culture originale, et survivent à son infection, pendant que, selon la règle, celle-ci tue d'autres sujets tout à fait nouveaux à l'expérience. Cependant les cultures isolées des animaux morts, ayant perdu leur pouvoir pathogène, sembleraient conserver un pouvoir antigène pour donner lieu, ainsi, à l'immunité; néanmoins on ne peut pas démontrer, au moment de l'inoculation de la culture originale, aucun pouvoir agglutinant ni bactéricide dans le sérum du sang des animaux en expérience.

Tout ce que l'on vient d'exposer va naturellement accroître la con-

naissance de la biologie de cette bactérie, qui présente de si étranges caractéristiques, mais ne fournit aucune explication au sujet du particulier comportement de son pouvoir pathogène, comportement dont le mécanisme continue encore à rester, en vérité, absolument obscur.

Laboratoire Médico-micrografique
de la Province de Pérouse.

PERGOLA M. – **Agar-Ascite-Tellurite (Clauberg) et " Sérum-Oeuf-Tellurite " (Pergola).**

En 1929, Clauberg (1) proposa, pour la recherche culturale du B. diphtérique, un substratum à employer en plaques, constitué d'agar de Levinthal — parties 3 — et liquide ascitique — partie 1 —; mise au point neutre avec le tournesol, la réaction de la masse, au moyen de l'acide acétique ; on y ajoute du tellurite potassique dans la proportion de 1 : 2.500. Ayant, toutefois, rencontré de notables difficultés pour se procurer le liquide ascitique en *quantité suffisante* et de *qualité constamment convenable* pour l'application en grand de ce milieu, l'A. en 1931, l'a remplacé par un autre. Dans la présente note nous comptons seulement discuter le résultat des récherches comparatives, effectuées entre le susdit agar-ascite-tellurite et le « Sérum-Oeuf-Tellurite » (S. U. T.) (2), substratum, comme on le sait, étudié par moi depuis plus de dix ans pour la démonstration du B. diphtérique dans n'importe quelle matière supposée de le contenir. Il a été désormais largement expérimenté et adopté par plusieurs Laboratoires et Cliniques, avec des résultats déclarés unanimement beaucoup plus satisfaisants que ceux que l'on a obtenus avec les autres moyens de culture, proposés dans le même but. On sait en outre, que le S. U. T., solidifié (en plaques, ou en bec de flûte dans les tubes) au moyen d'un chauffage pendant environ une heure, à 85°-90° C. sert pour la culture d'isolement, tandis qu'à l'état liquide il sert pour la véritable culture d'enrichissement du B. de Löffler.

Suivant Clauberg, dans l'agar-ascite les colonies de B. diphtérique, grâce à leur aspect caractéristique, peuvent être déjà macroscopiquement différenciées de celles des germes ordinaires concomitants, ainsi que — mais *pas toujours* — de celles des germes dits pseudo-diphtériques, des corynébactéries, c'est-à-dire de ceux qui sont à considérer de nature non

(1) Zentralb. f. Bakt. etc., Abt. I, Original, vol. CXIV, 1929.

(2) Pour une opportune comparaison avec l'agar de Chauberg je reporte la composition du S. U. T.: Jaunes d'oeuf, N. 1; Sérum de sang, cc. 50; Solution de chlorure de sodium à 0,80%, cc. 50; Tellurite de potassium, gr. 0,02.

diphtérique. Il se borne à instituer des recherches comparatives avec le sérum de Löffler, en concluant à l'infériorité de ce dernier milieu par rapport au sien.

Manzini (1) et Tallo (2) soumettent à un contrôle l'agar de Clauberg par rapport à d'autres *substrata*, compris le S. U. T., et le déclarent préférable à tous.

Vraiment la question pourrait être considérée comme oiseuse, du moment que, comme on l'a dit, Clauberg lui-même a senti la nécessité, ou tout au moins l'opportunité, d'abandonner l'emploi de l'agar, proposé par lui en 1929. Mais, puisqu'il existe à ce sujet un jugement comparatif défavorable au S. U. T., jugement que je ne reconnais pas justifié, nous irons discuter les raisons fournies par Manzini et par Tallo, à l'appui de leur préférence pour l'agar-ascite. Les dites raisons peuvent, dans leur ensemble, être résumées ainsi:

1) Absence de sérum de sang et de jaune d'oeuf, dont l'obtention offre des difficultés économiques et matérielles (Manzini);

2) Facilité et simplicité de la préparation du milieu (Manzini);

3) Possibilité de l'employer en plaques de large surface, ce qui facilite un bon isolement (Manzini);

4) Transparence parfaite du substratum, qui favorise l'examen des colonies isolées (Manzini, Tallo);

5) Facilité de se le procurer partout et rapidement (Manzini);

6) Différenciation plus fréquente entre les colonies du B. diphtérique et celles des pseudo-diphtériques (Manzini, Tallo);

7) Plus grande facilité d'exclure les cas négatifs et de reconnaître les cas positifs, macroscopiquement ou à l'aide d'une loupe ordinaire de grossissement (Tallo);

8) Pour la constance des résultats et pour la rapidité du developpement du B. diphtérique, l'agar de Clauberg offre les mêmes avantages du S. U. T. solidifié (Tallo).

9) La méthode combinée d'enrichissement dans le S. U. T. liquide et d'isolement successif sur les dits milieux solides, donne pratiquement la plus grande garantie de succès, pour reconnaître, avec facilité, les porteurs de germes convalescents et surtout les porteurs sains dans les collectivités, en général (Tallo).

Pour réfuter ces divers points, je n'aurais qu'à rappeler ce que j'ai écrit au sujet du S. U. T. dans mes plusieurs publications. Mais, ne pouvant trop m'étendre ici, je me bornerai aux arguments les plus importants.

---

(1) Bulletin de la Section Italienne de la Société Internationale de Microbiologie, vol. II, 1930.

(2) Journal de Bactériologie et Immunologie, vol. VI, 1931.

1) On peut négliger les difficultés économiques, quant à l'approvisionnement du jaune d'oeuf et du sérum de sang, parce qu'elles ne sont pas de nature à empêcher, ni même à retarder, l'utilisation de ces substances. D'ailleurs les difficultés matérielles n'existent pas, attendu que l'on peut se procurer partout et à toute époque, les oeufs, qui n'ont même pas besoin d'être frais, et quant au sérum, en admettant même la pire des hypothèses, on peut le procurer en recueillant le sang aux abattoirs mêmes, sans la moindre précaution d'asepsie et d'antisepsie, le rendant néanmoins susceptible d'une longue conservation en le traitant comme il convient avec du chloroforme. Les difficultés d'approvisionnement du sérum sont donc plus apparentes que réelles. Du reste, le sérum peut nous être fourni par tous les animaux, quelles que soient leurs conditions, tandis que le liquide ascitique ne nous est fourni que par l'homme, et encore affecté de formes morbides particulières. C'est en vue de cela que le liquide ascitique est en réalité le plus difficile à se procurer, au point que, pour ce motif et parce qu'il n'est pas constamment convenable à la préparation d'un bon milieu (inconvénients qui ne sont présentés ni par l'oeuf ni par le sérum), Clauberg, tout en se trouvant dans un centre comme Berlin, s'est décidé à en abandonner l'emploi.

2) La préparation du S. U. T. est beaucoup plus simple et plus rapide que celle de l'agar de Clauberg. En effet:

pour le S. U. T., tout se réduit à en mélanger les composants qui, par leur nature même, sont déjà à l'état liquide ou fluide, sans se préoccuper de la réaction, que l'on ne recherche même pas, et sans la nécessité de l'observation la plus scrupuleuse des règles d'asepsie et d'antisepsie, spécialement s'il doit servir pour les cultures d'isolement; dans ce cas le mélange nutritif, pour se bien solidifier, exige un chauffage tel, comme degré et durée, à subir la stérilisation;

pour l'agar de Clauberg, au contraire, il faut employer tout d'abord l'agar de Levinthal, dont la préparation, comme on le sait, est plutôt laborieuse et délicate; celui-ci doit être conservé fluide, à la température de 45°-50° C., pendant tout le temps nécessaire au mélange avec les autres composants, et à la confection des plaques; il faut en outre porter la masse au point neutre à l'aide du tournesol, avant d'y joindre le tellurite, et réaliser dans chaque manipulation les précautions les plus scrupuleuses d'asepsie et d'antisepsie, parce que le substratum, une fois distribué, ne peut pas être stérilisé.

3) La possibilité de préparation en plaques subsiste pour tous les milieux solidifiables, lesquels, à cause de cela, s'équivalent à ce point de vue.

4) Quoiqu'il ne soit pas transparent, le S. U. T. permet très bien de reconnaître les caractères des colonies, à l'oeil nu ou à l'aide d'une

simple loupe. Dans notre cas, le défaut de transparence ne diminue donc en rien la valeur du substratum.

5) D'après ce qui a été dit aux paragraphes 1) et 2), il résulte avec évidence, combien il est plus facile de se procurer partout et rapidement le S. U. T. que l'agar de Clauberg.

6) Ce point concerne une question complexe, à la solution de laquelle j'ai apporté ma contribution, en démontrant que les germes dits pseudo-diphtériques, surtout s'ils sont extraits de la cavité buccale ou nasale de l'homme, tout en se différenciant plus ou moins profondément du B. de Löffler classique, ne sont, tout au plus, que des corynébactéries de véritable nature diphtérique. Comme tels, à différence de ceux qui, en réalité, ne sont pas diphtériques, ils donnent dans le S. U. T. solidifié, et en général dans les *substrata* avec tellurite, des colonies identiques, ou presque, aux colonies diphtériques: il s'agit ici précisément des souches corynébactériques, que j'ai proposé d'indiquer avec la désignation de *Bacilles diphtériques modifiés*. Sur la base de ces conceptions, dérivées d'argumentations cliniques et expérimentales, que nous n'allons pas répéter ici pour des motifs de brièveté, l'observation de Clauberg, de Manzini et de Tallo, qu'il n'est *pas toujours* possible de différencier les colonies des pseudo-diphtériques de celles des véritables diphtériques (observation déjà formulée par tant d'autres Auteurs, depuis que l'on a attiré l'attention sur les pseudo-diphtériques), ne doit pas être attribuée à un défaut des moyens de culture, mais à l'erreur de l'attribuer aux pseudo-diphtériques, c'est-à-dire à des corynébactéries non diphtériques, et même à des corynébactéries diphtériques modifiées. Et alors, le défaut attribué par Manzini au S. U. T., lequel permettrait à de présumés pseudo-diphtériques de donner origine, plus souvent qu'avec l'agar de Clauberg, à des colonies indifférenciables des diphtériques, se résout, en dernière analyse, en un avantage, en tant que cela signifie tout simplement que le S. U. T. se prête mieux que l'autre milieu à faire reconnaître les B. diphtériques modifiés, qui, n'étant pas dépourvus d'importance épidémiologique, ne devraient pas passer inobservés.

7) Même dans le S. U. T. solidifié les colonies diphtériques prennent un aspect bien différent de celui des colonies des germes concomitants, qui réussissent à s'y développer: il est, par suite, aisé de reconnaître macroscopiquement, à l'oeil nu et au moyen d'une simple loupe, les résultats positifs et, par contre, les résultats négatifs; dans ce cas, qui n'arrive pas rarement, le substratum reste même apparemment stérile.

8) L'équivalence que Tallo considère de pouvoir établir entre l'agar de Clauberg et le S. U. T. solidifié:

a) par la constance des résultats,

b) par la rapidité de développement du B. dihptérique, en réalité ne subsiste pas, parce que:

I) les recherches mêmes de Tallo, effectuées moyennant des matières prélevées chez des convalescents ou chez des sujets guéris de diphtérie, ainsi que chez de personnes vivant avec eux, démontrent comme l'affirmation de la constance des résultats soit erronée, en tant que l'agar de Clauberg, par rapport au S. U. T. solidifié, arrive à manquer jusqu'au 60% (3 : 5) des cas positifs;

II) le tellurite, contenu en dose double dans l'agar de Clauberg. explique souvent l'influence sensiblement opposée, même sur le B. diphtérique, dont le développement, quelque peu ralenti, est, au moins pour quelque temps, moins abondant que dans le S. U. T. solidifié.

9) La plus grande garantie de succès reconnue à la méthode combinée, dans la recherche du B. diphtérique, est réelle, mais cela est dû à la culture d'enrichissement dans le S. U. T. liquide, étant donné son excellent emploi, plutôt qu'à la culture successive d'isolement dans l'un et dans l'autre milieu. A ce propos, il n'y a pas lieu de considérer comme indifférent, ainsi qu'on le penserait d'après Tallo, de recourir, pour cette culture d'isolement, à l'agar de Clauberg ou au S. U. T. solidifié, ce dernier étant, au contraire, préférable, parce qu'en devant préparer le S. U. T. liquide pour l'enrichissement, il est beaucoup plus simple et plus commode d'employer le même mélange nutritif pour préparer également le S. U. T. solidifié, plutôt que de préparer un autre milieu, complètement différent, comme l'agar de Clauberg; ce milieu, au surplus, ne donne même pas des résultats également dignes de considérations.

Finalement le S. U. T. a des avantages, qui font défaut à l'agar-ascite, comme, en général, à tous les *substrata* à base d'agar, à savoir:

I) il permet de réaliser la véritable culture d'enrichissement du B. diphtérique;

II) il permet de prèparer avec un unique mélange nutritif le substratum pour la culture d'isolement et celui pour la culture d'enrichissement;

III) il se prête, mieux que les autres, à être conservé complètement préparé et, par suite, déjà prêt pour son emploi;

IV) il n'y a pas de limites dans son application, même en grand, pour laquelle, depuis plus de dix ans après avoir été proposé, les occasions n'ont pas manqué;

V) il n'a jamais donné des échecs, par rapport au sérum de Löffler.

L'agar de Clauberg, donc, non seulement ne prévaut en rien sur le S. U. T. mais il lui est inférieur à beaucoup d'égards, et seulement en quelques points, d'importance secondaire, il lui équivaut. Il est donc pleinement justifié de conclure, contrairement à Manzini et Tallo, que le S. U. T. *est également préférable à l'agar-ascite-tellurite de Clauberg.*

Laboratoire de Micrographie et Bactériologie de la Direction Générale de la Santé Publique. Rome.

PETRAGNANI G. – **Les cobayes anaphylactisés passivement avec des lapins ne se désanaphylactisent pas avec les injections subintrantes.**

Il est connu depuis longtemps que les cobayes anaphylactisés activement et qui survivent à une première injection déchaînante insuffisante d'antigène, se comportent pendant quelques jours, vers les réinoculations successives, tout comme les cobayes sains non sensibilisés. C'est d'après cette constatation que Besredka a déduit la méthode des injections subintrantes pour la déanaphyloxie. Mais c'est à tort que l'on a cru que cette méthode, qui certainement est utile pour les cobayes, pouvait être efficace aussi pour tous les animaux et pour l'homme.

Pour le lapin, par exemple, les opinions ne concordent pas, et ce fait démontre tacitement, que cet animal ne se déanaphylactise pas totalement après le choc provoqué par une première injection déchaînante dont la dose d'antigène est insuffisante.

En faisant, au cours d'autres recherches, des épreuves d'anaphylaxie passive du lapin au cobaye, j'ai remarqué que les cobayes anaphylactisés passivement d'après des lapins, contrairement à ceux anaphylactisés activement, ne se désanaphylactisent pas après une première injection d'antigène et même pas après une serie de ces injections suivies de chocs sub-mortels.

D'après mes données je reporte ici quelques exemples démonstratifs.

On inocule à un petit cobaye au poids de 200 gr. environ, dans le péritoine, 3 cc. de sérum de lapin vacciné (5 fois chaque trois jours, et saigné dix jours après la dernière injection. Les 3 premières injections dans les veines: la quatrième et la cinquième dans le péritoine) avec du sérum de sang de boeuf conservé pendant 20 jours en glacière. Le jour suivant, 20 heures après, je lui injecte 0,5 cc. de sérum de sang de boeuf, dans le péritoine: l'animal est frappé de prurit, tressaillements, dyspnée. Six heures après, lorsqu'il semble remis, je lui inocule dans la jugulaire 0,5 cc.

du même sérum de sang et il succombe au bout de deux minutes, en présentant un choc anaphylactique très grave.

Un petit cobaye de 250 gr. reçoit dans le péritoine 3,0 cc. du même sérum de sang de lapin vacciné avec du sérum de sang de boeuf. Vingt heures après on lui injecte dans le péritoine 0,5 cc. de sérum de sang de boeuf: il présente prurit, tressaillements, perte des excréments et des urines. Deux heures après il reçoit, dans la veine jugulaire 0,2 cc. du même sérum de sang de boeuf, et il succombe après quelques minutes avec un choc très grave.

Un petit cobaye de 190 gr. reçoit dans le péritoine 3,5 cc. de sérum de sang de lapin vacciné avec du lait d'ovidé (sérum de lapin conservé pendant 15 jours dans une glacière). Vingt-six heures après je lui injecte 0,2 cc. de lait de brebis: il est atteint de prurit et tressaillements. Deux heures après je lui injecte dans la jugulaire 0,05 cc. du même lait et il est frappé cette fois, de prurit, tressaillements, bruits respiratoires, perte des excréments et des urines. Cinq heures après je lui inocule dans l'autre jugulaire 0,3 cc. toujours du même lait et il est atteint de prurit, de dyspnée, il a le poil ébouriffé, jusqu'à la mort qui survient environ une heure après.

Un cobaye de 520 gr. de poids, reçoit dans le péritoine 4 cc. de sérum de sang de lapin vacciné avec du lait de brebis. Vingt-quatre heures après il reçoit dans la v. jugulaire 0,3 cc. de lait de brebis qui provoquent un choc très grave avec prurit, tressaillements, dyspnée, accès tonico-cloniques, qui le laissent presque mort. Deux heures après, lorsqu'il semble remis, il reçoit 0,5 cc. du même lait et il est atteint tressaillements et de diplotonie progressive jusqu'à la mort, qui se produit après une heure.

L'exemple ci-dessous me semble fournir une preuve qui confirme la résistance du lapin et du cobaye à la désanaphylaxie, et en même temps aussi la sensibilité du cobaye à révéler passivement, avec une symptomatologie très nette, même des états d'anaphylaxie qui, lorsqu'ils sont directement déchaînés sur des lapins, ne donnent lieu qu'à des signes peu prononcés.

Deux lapins reçoivent dans les veines, pour dix fois au cours de dix semaines, 1 200 de cc. de sérum de porc dans les veines.

Quatorze jours après la dernière inoculation ils reçoivent, par voie sous-cutanée, dans le flanc droit, 4 cc. de sérum intégral de porc. L'examen local ne permet de ne rien observer de local, jusqu'à 24 heures après l'injection.

On lie les animaux à la table opératoire et on leur applique le manomètre pour mesurer la pression carotidée, qui indiqua pour l'un des animaux 110 cm. et pour l'autre 120 de Hg.

On inocula ensuite, à tous les deux, dans les veines 4 cc. du même

sérum de porc: le premier lapin n'accusa qu'une dépression de 12 cm. pour un laps de temps de 10 m′, et le deuxième une dépression de 25 cc. avec de fortes arythmies et une polypnée très intense pendant 20 m′ environ.

Après avoir détaché la communication avec la tuyau du manomètre, et avoir fait sortir quelques cc. de sang pour éliminer toute trace de $MgSO_4$, on recueillit le sang des deux lapins.

Après en avoir séparé le sérum, la recherche des précipitines fut complètement négative (ce qui était à prévoir, vu que l'antigène précédemment inoculé les aurait sans doute absorbées dans le cas qu'elles fussent présentes (1).

Ces sérums furent inoculés. dans la dose de 2 cc. chacun, dans le péritoine de deux petits cobayes de 110-120 gr. n. n.

Vingt heures après, j'injecte à ces deux animaux ainsi qu'à un autre petit cobaye de contrôle du même poids, 0,5 cc. de sérum de porc, dans la jugulaire: le petit cobaye de contrôle n'accusa aucun dérangement, tandis que les animaux auxquels on avait inoculé dans le péritoine le sérum des lapins, eurent un choc très grave avec prurit, tressaillements, dyspnée, convulsions, parésie: ils semblaient morts, mais ensuite ils se sont remis.

Après un autre laps de temps de 24 heures, on répéta, aux deux cobayes et à celui de contrôle, l'inoculation, dans l'autre jugulaire, de 0,5 cc. du même sérum de sang de porc: aucun phénomène particulier ne se manifesta pour le contrôle, tandis que les deux petits cobayes qui avaient été précédemmént sensibilisés avec du sérum de lapin ont présenté un choc très prononcé et grave, et l'un des animaux fut aussi frappé d'un accès convulsif tonico-clonique, mais moins grave que celui du jour précédent.

Je puis donc affirmer, en me basant aussi sur d'autres expériences que je reporte ci-dessous, que pour obtenir dans les cobayes, une hypersensibilité prononcée et durable, il faut leur injecter dans le péritoine, de 1 à 2 cc. de sérum de sang de lapin pour chaque 100 gr. du poids de leur corps, et que l'hypersensibilité transmise est plus prononcée lorsque les lapins producteurs de sérum ne sont traités qu'avec 4-5 injections d'antigène faites à des intervalles de 2-3 jours (saignée l'8ème jour après la dernière), que lorsqu'on les traite avec du sérum de lapins injectés 8-10 fois avec l'intervalle d'une semaine entre une inoculation et l'autre. Ce fait confirme, indirectement, ce que j'ai affirmé autrefois, en 1923 (2): que l'état anaphylactique du lapin est plus marqué si le traitement des injections préparantes est maintenu dans un laps de temps de 10-12 jours.

(1) V. *Nishegorodzeff*, Zeitsch. für Imm., Bd. 66, H. 314, 1930.
(2) Lo Sperimentale, Année LXXVII, fasc. III-IV, 1923.

On injecte le sérum de sang d'un lapin inoculé, chaque semaine, pour 8 fois, par voie souscutanée, avec 4 cc. de sérum de cheval au ½, et saigné 8 jours après la dernière injection, dans le péritoine d'un cobaye de 340 gr.: vingt quatre heures après on injecte, dans la jugulaire, 0,50 cc. de sérum de cheval, ce qui donne lieu à un petit choc. Une heure après on répéte, sur l'autre jugulaire, l'injection de 2 cc. du même sérum de cheval qui produit un choc très léger, prurit et une légére dyspnée.

On inocule à un cobaye de 210 gr., 3 cc. du même sérum de lapin, et après un laps de temps de 20 heures, on injecte 1 cc. de sérum de sang de cheval: il accuse un choc très grave avec accès tonico-clonique, mais ensuite l'animal se remet.

Sérum de sang d'un autre lapin inoculé comme le précédent, pour 8 fois, avec 4 cc. de sérum de sang de cheval a ½ avec de la solution physiologique.

On l'inocule, dans la dose de 5 cc., dans le péritoine d'un cobaye de 275 gr., auquel on injecte, 24 heures après, dans la jugulaire, 1 cc. de sérum de cheval: choc très grave, convulsions et parésie, mais l'animal se remet.

Quatorze heures après on répéte l'injection, dans l'autre jugulaire, d'1 cc. de sérum de cheval: il se produit un léger choc.

RÉSUMÉ. — L'A. décrit des expériences par lesquelles il démontre qu' un cobaye anaphylactisé passivement avec un lapin (en moyenne 1 cc. de sérum de sang de lapin vacciné pour 100 gr. du poids de cobaye) s'il survit à la première injection déchaînante ou même à une série d'injections d'antigène en dose insuffisante, ne présente pas, contrairement à celui qui a été désanaphylactisé activement, un état de désanaphylaxie évident, et si on lui injecte à nouveau, dans la circulation, une dose convenable d'antigène, il est frappé d'un choc mortel.

En transportant l'anaphylaxie du lapin au cobaye, il est possible d'évaluer dans cet animal mieux que chez le lapin même, le degré d'hypersensibilité produit. On confirme ainsi indirectement (1), ce que l'on avait observé en faisant des expériences directement sur des lapins, c'est-à-dire que l'état d'anaphylaxie, sur les lapins, est plus durable lorsque le traitement des injections préparantes est maintenu dans un laps de temps de dix jours.

Institut d'Hygiène et de Bactériologie de l'Université Royale de Siena.

(1) Lo Sperimentale, Année LXXVII, fasc. III-IV, 1923.

PETRAGNANI G. – **Le phénomène d'Arthus n'est point un fait d'hypersensibilité locale.**

Dans de précédentes études, communiquées à l'Acc. Med. Fis. Fiorentina, aux assemblées du 15 juin 1922 et du 24 mai 1923 (1) j'ai démontré que le phénomène local d'Arthus pouvait être produit aussi en pratiquant quotidiennement à des lapins des injections sous cutanées de quelques cc. d'un sérum de sang hétérologue: l'infiltration locale se manifeste aussi, en ce cas, après la quatrième ou la cinquième injection, au moment où l'on ne peut encore admettre aucun état d'hypersensibilité anaphylactique local ou général.

J'ai démontré qu'à la sensibilisation par des injections de très petites doses de sérum hétérologue, faisait suite une hypersensibilité générale très prononcée qui était révélée par un choc très fort produit par l'injection, dans la circulation, d'une forte dose de sérum antigène: en l'injectant, au contraire, par voie sous-cutanée les phénomènes réactifs locaux étaient nuls ou bien peu prononcés.

J'ai démontré aussi que l'animal précédemment sensibilisé par voie sous-cutanée, par plusieurs injections de petites ou de fortes doses de sérum antigène, inoculé par voie intra-veineuse avec une forte dose d'antigène, s'il survit au choc, ne manifeste jamais, par la suite, aucune réaction locale au point sous-cutané où l'on avait fait les injections préparantes et où s'était produit un phénomène réactif local au cours de ces injections, phénomène qui s'était résous entre la dernière inoculation préparante et celle déchaînante.

Il m'est possible d'ajouter aujourd'hui trois faits qui semblent s'opposer à l'interprétation du phénomène d'Arthus comme un fait d'anaphylaxie locale:

I) Si l'on pratique à des lapins des injections de doses plutôt fortes d'un sérum de sang hétérologue (par exemple 3-4 cc. chaque fois), en laissant un intervalle de sept jours entre une injection et l'autre, faites par voie sous-cutanée (non dans l'épaisseur du derme) dans le dos, à quelques centimètres de l'épine dorsale, on remarque qu'après la quatrième injection la réaction locale ne se forme pas au point où l'on avait fait les injections, mais au contraire dans la région thoracique-abdominale, au dessous.

Ce fait démontre qu'il ne se produit aucune hypersensibilité réactive particulière au point qui a été tout d'abord humecté et offensé par le sérum antigène, mais que le foyer réactif se forme plus bas, où l'antigène

---

(1) V. « Atti » sur Lo Sperimentale, Année LXXVI et LXXVII.

se ramasse à cause de la force de gravité et où il est bloqué, évidemment par un mécanisme de défense, et ensuite éventuellement désintégré lorsque les enzymes protéolytiques se sont formés.

II) Si quelques heures après la sixième injection quotidienne sous-cutanée pratique à un lapin présentant le phénomène réactif local, on fait une saignée du coeur (1) et si l'on injecte ensuite le sérum de ce sang, à la dose de 2 cmc. sous la peau d'un petit cobaye de 100 gr. environ, en inoculant au bout de deux semaines, dans la jugulaire de cet animal, un cmc. du même sérum hétérologue inoculé au lapin, on ne remarque aucun choc.

Ce fait démontre que dans le torrent de la circulation du lapin qui a déjà produit une réaction locale il ne passe point de sérum hétérologue et confirme, par conséquent, la signification défensive de la réaction locale.

III) En soumettant des lapins à des injections, par voie sous-cutanée, d'un sérum de sang hétérologue, en laissant un intervalle de 4 à 7 jours entre chaque injection et en changeant chaque foie la région du corps où l'injection est faite, — la 1ère, par exemple dans la veine marginale de l'oreille gauche, la 2ème dans la région sous-cutanée à la base de l'oreille droite, la 3ème dans la région sous-cutanée de la base de l'oreille droite, la 3ème dans la région sous- cutanée de la surface intérieure de la cuisse arrière gauche, la 4ème dans la région sous-cutanée de la base de l'oreille gauche, la 5ème dans la région sous-cutanée de la surface intérieure de la cuisse arrière droite, la 6ème sous la peau du flanc gauche, la 7ème sous la peau du flanc droit, — on remarque que, tout comme les lapins inoculés toujours à la même place, après la quatrième injection la réaction locale commence à se manifester, et que lors des injections successives (5ème et 6ème) cette réaction cesse à la place où elle s'était produite et apparaît à l'endroit de la nouvelle injection, sans que là où l'on avait pratiqué l'inoculation précédente il y ait le moindre signe d'une reprise.

Cette méthode permet de suivre, d'une façon particulièrement exacte, la marche de la réactivité de l'organisme au cours de la série d'injections de la substance antigène, parce qu'on peut examiner séparément le degré de réaction de chaque inoculation, qui est constamment faite dans une région sous-cutanée saine. De la sorte, le risque de voir se développer des foyers inflammatoires de pyogènes est beaucoup diminué, parce que ces foyers se manifestent souvent lorsque les injections sont toujours faites au même endroit, à cause des conditions altérées de la région sous-cutanée,

---

(1) Il faut remarquer que le lapin reçoit quotidiennement des injections de sérum hétérologue par voie sous-cutanée, et même en admettant que ce dernier ne passe que très lentement dans la circulation, il faudrait cependant admettre que dans le sang il y en ait une petite quantité provenant de l'injection précédente.

et en s'ajoutant aux phénomènes purement réactifs ils en empêchent souvent une évolution exacte.

Il m'a été ainsi possible d'observer, par exemple, que sur des lapins inoculés 7 jours aux régions sus-dites, avec 4 cc. de sérum de sang de cheval dilué à $\frac{1}{2}$ moyennant de la solution physiologique, la réaction locale se manifeste pour la première fois à la quatrième injection (base oreille gauche) et devient plus intense aux régions des deux injections successives (surface intérieure cuisse arrière d. et flanc gauche). Pour tous les animaux l'intensité de la réaction diminua à la septième infection. J'ai aussi remarqué que ces 8 lapins avaient régulièrement augmenté de poids (en moyenne chaque animal était passé de 1500 gr. à 2000 gr.) jusqu'à la quatrième injection; de la quatrième à la sixième l'augmentation avait été très réduite, et après la septième injection tous avaient diminué de poids.

Le sérum de sang de ces lapins saignés dix jours après la dernière injection sous-cutanée, a démontré de pouvoir donner lieu, chez des cobayes, à un état d'anaphylaxie passive moins prononcé que celui produit par la même dose de sérum de lapins inoculés moins souvent et à des intervalles de temps plus courts entre une injection et l'autre. Ce fait confirme ce que j'ai affirmé autre fois, en 1923 (v. l. c. plus haut), en me basant sur des observations faites sur des lapins injectés constamment par la voie des veines, et il nous montre que pour obtenir une sensibilisation prononcée sur des lapins il faut répéter plusieurs fois l'injection de l'antigène, sans toutefois dépasser un certain nombre et sans laisser un intervalle trop prolongé entre ces injections.

Conclusion. — Ces faits s'opposent à l'interprétation du phénomène d'Arthus considéré comme une hypersensibilité dans le sens anaphylactique classique, car ils démontrent qu'il fait partie des phénomènes utiles à la défense de l'organisme contre l'introduction de substances protéiques hétérogènes.

De même le phénomène d'Arthus ne peut pas être considéré comme un fait local, parce que le point de la région sous-cutanée préparé par les premières injections, n'a aucune réactivité particulière par rapport à tout le reste du tissu sous-cutané du lapin traité.

J'ai chargé un de mes assistants de répéter ces mêmes expériences en changeant non seulement la région à chaque injection, mais aussi l'antigène, d'après Fabry (1).

Institut d'Hygiène Expérimentale de l'Universitè Royale de Siena.

---

(1) C. R. de la Soc. de Biol., vol. 72, 1912.

PETRAGNANI G. – **Une cause possible d'erreur dans la recherche de ce que l'on nomme le " Ultravirus tuberculeux ".**

Au cours de mes recherches, qui depuis 1925 n'ont jamais été interrompues, ayant comme but la démonstration de l'ultravirus tuberculeux, j'ai obtenu, dernièrement, deux résultats positifs à l'examen microscopique. Ce fait m'a beaucoup surpris car il s'est produit dans des préparés apprêtés avec la bouillie de ganglions et de rate de deux cobayes qui avaient continué à augmenter normalement de poids après l'injection du filtrat, et qui n'avaient présenté aucun signe suspect après les avoir sacrifiés respectivement 30 et 40 jours après l'injection de ce filtrat.

Contrairement à ma méthode première de faire les préparés en écrasant directement les petits ganglions sur les verres p. objet au moyen de pincettes, j'avais préféré de réduire en bouillie les ganglions lymphatiques en question et un petit fragment de rate dans un mortier de porcelaine. Les bacilles acido-résistants trouvés dans les préparés apprêtés avec cette bouillie étaient très nombreux pour l'un des cas, et en nombre un peu inferieur dans l'autre, mais il n'y avait aucun doute sur leur identité morphologique et tinctoriale avec les bacilles typiques de Koch.

Ces deux préparés furent ensemencés sur des éprouvettes contenant mon terrain au vert de malachite pour la tuberculose, et j'injectais un cobaye dans la région inguinale.

En réfléchissant sur ces résultats qui me semblaient curieux, après tant d'expériences qui m'avaient toujours donné des résultats négatifs, je me rappelais que dans les mortiers de la Section on avait pilé, pendant les jours précédents des viscères d'animaux tuberculeux, et que nous y avions, mes assitants et moi-même — et ce fait a une grande importance — pilé aussi des patines bacillaires en présence de NaCl, d'éther, d'acétone, de pyridine, etc., pour la préparation des antigènes en étude pour le sérodiagnostic de la tuberculose.

Ces mortiers avaient été traités longtemps à l'ébullition, après l'usage, dans un vaste récipient plein d'eau; ensuite ils avaient été rincés abondamment avec de l'eau courante, essuyés, et, avant de servir à nouveau, flambés au bec Bunsen fortement oxygéné et enfin lavés avec quelques cc. d'eau stérile.

Mais. . . . . le b. de Koch conserve ses capacités tintoriales et sa morphologie même après des traitements qui lèsent profondément d'autres éléments cellulaires et bactériens: la méthode d'enrichissement de Renaux précédée de l'autoclavisation des expectorations en présence d'alcali est bien connue, mais, malgré tout, les bacilles tuberculeux conservent leur caractéristiques morphologiques et tintoriales. Dans des fioles de mon

« antituberculine », agées de 6 ans, on trouve toujours les bacilles typiques acido-résistants: en traitant des patines de bacilles, même pendant longtemps avec de l'acétone, de l'éther, du chloroforme, de l'alcool méthylique, du fénol, etc., j'ai observé tout dernièrement, que les bacilles de Koch conservent, en grande majorité, leur acido-résistance.

J'ai donc pensé qu'il était probable que les bacilles de Koch pilés dans les mortiers de porcelaine, dont les plus convenables pour la préparaation des bouillies ne doivent pas être vernis intérieurement, en penètrent les parois en s'y logeant, et peuvent envahir à nouveau le matériel que l'on traite dans ces mortiers, même après l'ebullition, le traitement en autoclave, le lavage et le flambage, parce que le pilage produit sans doute une très légére corrosion.

Le contrôle démontra que ce fait était parfaitement exact.

J'ai ajouté dans différents mortiers qui avaient servi aux opérations susdites et qui avaient été ensuite lavés, quelques gouttes d'eau physiologique et je les ai frottés soigneusement avec le pilon pendant quelques minutes. Moyennant le liquide légèrement laiteux de chaque mortier, je fis des préparés qui furent colorés avec la méthode Ziehl-Neelsen: dans tous les préparés j'ai trouvés les bacilles acido-résistants caractéristiques, parfaitement semblables à ceux de Koch, quelques fois isolés ou bien réunis en petits amas. J'ai aussi remarqué que les préparés qui en contenaient une plus grande quantité étaient ceux pour lesquels ont s'était servi de mortiers à surface intérieure non vernie et dont le pilon avait la tête aussi non vernie. En se servant de mortiers vernis à l'intérieur et de pilons non vernis, ou bien si l'usage avait détérioré le vernis même, le nombre des b. était encore considérable. Avec des mortiers bien émaillés à l'intérieur et des pilons aussi bien vernis, le nombre des bacilles acido-résistant était trés réduit, si bien que leur détermination ne fut positive qu'en certains cas et pour quelque rare bacille.

Après avoir fait cette première expérience de contrôle, les jours suivants on lava à nouveau ces mortiers, on les flamba (six) et on y pila un peu de rate et quelque petit ganglion lymphatique de cobaye. D'après les bouillies de ces ganglions et de rate normale apprêtées, comme il a été dit, dans chaque mortier, je fis des préparés qui furent colorés et observés au microscope: presque tous contenaient des bacilles acido-résistants, isolés, ou bien à groupes, parfaitement identiques aux bacilles de Koch et à ceux que j'avais observés dans les préparés des deux cobayes en question.

Il y a un fait très intéressant et c'est qu' avec les préparés pour lesquels on s'était servis de mortiers assez bien vernis et dont la première recherche avec de la solution physiologique seule n'avait été que faiblement positive, on a obtenu, la seconde fois, des résultats plus positifs. Il me semble que ce phénomène est produit par le fait que dans les pré-

parés apprêtés avec le matériel recueilli dans les mortiers où l'on n'avait introduit que de la solution physiologique, il est facile que le matériel étendu sur le verre, formé par des sels et du caolin, se détache en partie pendant la coloration.

En continuant ces recherches microscopiques, j'ai pu constater aussi qu'il ne s'était produit aucun développement dans les éprouvettes ensemencées avec la bouillie de ganglions et de rate des deux cobayes qui avaient été inoculés avec les filtrats et qui avaient porté à ces recherches. Les deux cobayes qu'on avait inoculés avec la suspension de ces mêmes bouillies, faites au mortier, positives au microscope et tuées au 45.ème jours, avaient augmenté de poids et étaient parfaitement sains: je n'ai trouvé aucun bacille acido-résistant dans les préparés faits en écrasant directement les ganglions lymphatiques et la rate.

Conclusion. — Lorsqu'en recherchant ce que l'on nomme l'« ultravirus tuberculeux » on se sert de mortiers de porcelaine pour préparer les bouillies de ganglions et de viscères employés pour les préparés microscopiques, il est bon à savoir que si on utilise les mêmes mortiers qui ont servi a faire des bouillies de matériaux tuberculeux, même après les avoir stérilisés, lavés et flambés, on a sous la main des mortiers qui cèdent au matériel qu'on y traite à nouveau, des bacilles acido-résistants typiques, que l'on ne peut cultiver « in vitro » et qui ne sont pas transmissibles « in vivo ».

Ces bacilles, bien qu'ils répondent parfaitement aux formes auxquelles ce que l'on nomme « l'ultravirus » peut donner lieu, ne sont, en ces conditions, que des cadavres de bacilles de Koch qui sortent des pores du mortier, même s'il a été stérilisé et flambé, lorsqu'il se produit le frottement pendant le pilage des matériaux nouveaux.

Institut d'Hygiène et de Bactériologie de l'Université Royale de Siena.

PETRAGNANI G. – **Comportement du pH pendant le développement du B. de Koch (type humain) dans des ballons de bouillon glycériné de forte épaisseur (12 cm.) et de faible épaisseur (5-3 cm.) et détermination du poids de la patine bacillaire par unité de surface de développement.**

Il n'y a pas encore un accord entre les différents rechercheurs sur la manière de procéder de la réaction (pH) du liquide de culture, pendant le lent développement du b. de Koch. Quelques uns auraient observé une acidification du milieu, d'autres une alcalinisation progressive.

Au cours de quelques-unes de mes recherches sur des cultures dans

du bouillon glycériné mis en couche épaisse dans les ballons, en faisant une prise aseptique au 20.ème et une autre au 40.ème jour, j'avais trouvé une augmentation progressive de l'alcalinité du bouillon qui, d'un pH initial de 7,1-7,2 atteignait un pH de 8,1-8,2-8,3. M'étant trouvé une fois, par hasard, à semer la souche de la collection « Landis » en même temps dans un ballon avec une forte couche de bouillon et dans une ampoule type Roux contenant le même bouillon en faible couche, en contrôlant le pH du bouillon au 50.ème jour de développement, j'ai constaté une augmentation d'alcalinité dans le ballon (pH 8,1) et une forte acidification dans l'ampoule type Roux, où le développement s'était fait abondamment et le pH avait baissé jusqu'à 6.

Pour éclaircir ce résultat j'ai pris trois ampoules identiques à section carrée et de la même qualité de verre. Je les nettoyais avec le plus grand soin. En deux d'entr'elles je plaçai cc. 250 et dans la dernière cc. 500 d'un même bouillon glycériné à pH 7,2. Je les ensemençais avec des parties égales de la même couche d'une culture en bouillon de 40 jours (souche « Landis ») et les plaçais dans le même thermostat, en ayant soin de placer l'une des deux ampoules contenant cc. 250 de bouillon dans une position horizontale. De telle sorte le b. de Koch, dans les deux éprouvettes verticales, trouvait, pour une égale surface libre utile à son développement, une épaisseur de liquide, dans un cas, double de l'autre (cc. 250 et 500) et dans l'éprouvette horizontale trouvait pour le double de surface libre, utile à son développement, une épaisseur de liquide égale seulement à ¼ de l'une et à la moitié de l'autre. Ces éprouvettes étaient toutes fermées par un bouchon de coton gras de la même consistance et par un capuchon de papier huilé.

Après 24 jours le développement était plus grand dans les deux éprouvettes verticales que dans celle horizontale, de telle sorte que l'on y constatait la présence d'une couche épaisse qui couvrait presque toute la surface du liquide, tandis que dans la troisième éprouvette il n'y avait que deux fragments qui, par leur étendue, couvraient moins de la moitié de la surface du liquide.

Je prélevais aseptiquement, de chaque éprouvette, cc. 10 du bouillon sous-jacent à la couche de culture et je faisai la détermination du pH; je trouvais un pH de 7,62 dans l'échantillon de l'éprouvette verticale avec 500 cc. de bouillon et un pH de 8,24 dans celle avec 250 cc.; la troisième éprouvette, celle en position horizontale, avait un pH de 8,5.

Après 35 autres jours de développement en thermostate à 37° C., la couche bactérique devint très épaisse dans les éprouvettes verticales et plus spécialement dans celle contenant 500 cc. de bouillon. Dans la troisième, depuis plusieurs jours, la surface du liquide était presqu'entièrement oc-

cupée par une couche moins épaisse des précédentes, mais qui ne progressait plus dans les petites zones encore libres.

Je prélevais à nouveau de chaque éprouvette cc. 10 de bouillon pour mesurer encore une fois le pH; j'en contrôlais la stérilité d'autres germes par des ensemencements dans des éprouvettes de bouillon et agar, et après avoir rompu les patines bacillaires par de petites secousses, de manière à les réduire en pièces capables de passer à travers le col des ampoules, je versais le contenu de chaque ampoule sur de la gaze épaisse convenablement étendue sur un large entonnoir. Je détachais complètement les lambeaux de l'enduit bacillaire des parois des ampoules moyennant des adjonctions répétées de petites quantités d'eau stérilisée que je versais sur la gaze de l'entonnoir.

Le pH de l'échantillon prélevé de l'éprouvette verticale contenant 500 cc. de bouillon, a été trouvé égal à 7,72; dans celle verticale renfermant 250 cc., égal à 6,54 et dans celle horizontale où il y avait 250 cc. de bouillon, égal à 6,36.

Les patines bacillaires de chaque ampoule, recueillies séparément sur les trois gazes, laissées pendant 12 heures sous un aspirateur bien aéré, furent placées dans trois capsules lavées et pesées: celle de l'ampoule verticale contenant 500 cc. de bouillon était de gr. 10,2; celle de l'ampoule verticale renfermant 250 cc. de bouillon était de gr. 5,6 et celle de l'ampoule horizontale où il y avait 250 cc. de bouillon était de gr. 8.

Dans tous ces essais, avant de mesurer la puissance électrique du pH des échantillons de bouillon glycériné (prélevés de dessous les couches bacillaires à l'aide de pipettes stérilisées, déjà bien lavés avec tous les soins voulus, et placés dans des éprouvettes de verre neutre également bien propres et stérilisées, je les gardais pendant 10′ dans une marmite de Koch à courant de vapeur, avec un échantillon du même bouillon glycériné à pH initial de 7,2, conservé stérile dans un matras ou dans un ballon du même verre et pendant une égale période de temps dans le même thermostate. Dans ce bouillon de contrôle les variations du pH ont été toujours minimes (7,16-7,18).

Il me semble que, pour le moment, les résultats de ces essais, bien qu'ils ne soient pas encore très nombreux, puissent servir réellement à supprimer les contradictions entre les résultats des différents rechercheurs, attendu qu'ils nous apprennent que si dans les 3-4 premières semaines de développement on a une augmentation de l'alcalinité du milieu, cette augmentation, à égalité de surface libre utile au développement bactérique, est plus grande dans les ampoules qui renferment une moindre hauteur de liquide de culture.

Après la 8me semaine, qui est considérée comme le temps limite pour le développement, le pH se trouve abaissé jusqu'à une nette réaction

acide dans les ampoules où l'épaisseur du liquide est inférieure 5-6 cc. (et le pH est plus bas dans les ampoules où la hauteur du liquide est moindre); tandis que dans les ampoules ayant une haute couche de liquide (10-12 cc.) et dans lesquelles l'alcalinisation avait été moins élevée pendant les premières semaines, le pH a augmenté: c'est-à-dire que l'alcalinité est augmentée (pH 7,8).

En outre, ayant ajouté à la recherche du pH celle du poids de l'enduit bacillaire augmenté dans les-dites ampoules à la 8.ème semaine, qui est considérée par la plupart des rechercheurs comme le temps limite pour le développement *in vitro*, on peut noter que, si d'un côté pour un même volume de liquide cultural la plus grande surface libre, utile à l'accroissement de la patine bacillaire, porte à l'accroissement d'un plus grand poids de bacilles, toutefois, pour une même surface de développement, une plus grande masse de liquide porte à un accroissement plus abondant de bacilles, par unité de surface de développement. En outre, dans ces conditions, il parait que le développement continue même après la 8.ème semaine.

Il serait utile en tous cas de rechercher la valeur antigène des tuberculines produites par une même souche cultivée soit moyennant une couche haute de bouillon soit une couche basse.

Institut d'Hygiène et Bactériologie de la R. Université de Sienne.

PETRAGNANI G. – **Culture du B. de Koch dans des récipients hermétiquement fermés.**

D'après les recherches de Corper tout particulièrement, on connaît l'étroite dépendance qui existe entre le développement du b. tuberculaire et la présence d'oxygène libre dans le milieu ambiant, de telle sorte que par la réduction de celui-ci le développement du b. de Koch diminue en proportion. Plusieurs fois, en ayant ensemencé des ballons de bouillon glycériné et en ayant bien paraffiné le bouchon de coton de manière à obtenir une fermeture hermétique, j'ai pu constater la succion du bouchon paraffiné dans le col du ballon, évidemment produite par la dépression se formant à l'intérieur des ballons par l'absorption de l'oxygène. J'ai pu noter également, quelquefois, le même fait dans les éprouvettes avec mon milieu au vert de malachite, dans les cas où le développement est remarquable et le paraffinage du bouchon est fait avec une exceptionnelle abondance de paraffine (chose à éviter).

J'ai fait quelques essais sur différentes souches de tuberculose hu-

maine cultivée dans des ballons hermétiquement fermès, et de ces essais je communiquerai le suivant. De trois souches de tuberculose humaine (Lola, Allade, Landis) bien développées dans du bouillon glycériné j'ai fait, avec la couche supérieure de chacune, l'ensemencement de 2 ballons de bouillon glycérine à pH 7,2 (bouillon glycériné préparé pour tous les ballons au même moment). À l'un de ces deux ballons ensemencés de chaque souche, je remplaçais le bouchon de coton par un autre en caoutchouc, déjà choisi et stérilisé séparément, et en complétai la fermeture avec paraffinage, de manière à fermer hermétiquement les ba.lons. Je plaçais les trois ballons fermés avec les bouchons de coton et ceux qui étaient fermés avec les bouchons de cautchouc paraffiné dans le même thermostate à 37° C.

À la quatrième semaine, tandis que l'on constatait un développement caractéristique et abondant dans les trois ballons fermés avec le seul bouchon de coton, dans ceux fermés hermétiquement, le développement resta pauvre en principe, mais cette pauvreté a été de divers degrés suivant les trois souches: pour Lola et Allade, en effet, le développement s'arrêta à une petite motte de patine flottante qui, en dernier lieu, alla vers le centre presque avec une involution atrophique. Dans le ballon avec la souche Landis, au contraire, la première motte de matière culturale qui s'est formée, avec un aspect couenneux, pendant les premiers 10-12 jours de développement, c'est-à-dire lorsque le germe avait encore à sa disposition de l'oxygène libre, elle continua à s'étendre comme un léger voile, comme une pellicule lisse et semi-transparente, qui parvint à bien couvrir toute la surface du milieu de culture et même à remonter sur un court espace, sur la paroi du ballon. Au microscope elle résulta constituée de bacilles typiques de Koch.

Dans ces essais et dans les autres, le bouillon de Löffler glycériné, employé par moi, contenait 1% de peptone, marque italienne S. I. B. et glycérine à 5%. Le pH était rigoureusement réglé par le mesureur de puissance à 7,2 (je répétais chaque fois l'essai au moment de l'ensemencement sur un échantillon du même bouillon après stérilisation).

Dans les matras hermétiquement fermés, le pH contrôlé au 40.ème jour de développement, sur échantillons de bouillon prélevés au dessous de la couche bacillaire, a été trouvé légèrement augmenté à 7,3-7,4 dans les récipients où le développement avait été plus abondant (Landis). Dans les ballons où le développement s'arrêta à un premier signe, le pH resta à peu près indifférencié.

De ces essais, on peut maintenant ajouter aux connaissances déjà acquises sur ce point de la biologie du B. de Koch, la constatation que toutes les souches ne sont pas également sensibles à la suppression progressive autogène de l'oxygène libre dans le milieu ambiant de culture.

Étant donné le fait que les souches, qui sont capables de se développer dans un milieu si appauvri d'oxygène forment un voile bacillaire atypique et très mince, il me semble utile de voir l'effet du passage en série dans les ballons fermés, pour en étudier les propriétés biologiques.

Institut d'Hygiène et Bactériologie de la R. Université de Sienne.

PETRAGNANI G. – **Cultures secondaires de la culture en bouillon du bacille de Koch.**

En considération de l'évidente action réductrice du B. de Koch pendant le développement, j'ai voulu voir si un lambeau du voile d'une culture dans du bouillon glycériné, pris aseptiquement et placé dans une éprouvette ordinaire avec 5 cc. de bouillon de Löffler, aurait eu la capacitè cathalysatrice sur le développement des bacilles anaérobies ordinaires obligés comme les morceaux de foie et de rein d'un animal normal.

J'ai fait, comme dans une éprouvette de milieu à la Tarozzi, avec le contrôle voulu des éprouvettes contenant seulement du bouillon simple, quelques essais préliminaires qui m'ont démontré comment les anaérobies ordinaires se développent notablement dans les éprouvettes avec le lambeau de voile bacillaire. Le D.r Daddi chargé par moi des détails de cette étude fera une communication particulière dans une note à part.

Par analogie j'ai voulu voir si, en prélevant de quelques bouillons de culture de 5-6 semaines de développement, le liquide cultural sous-jacent au voile et en le distribuant aseptiquement dans des éprouvettes stérilisées, dans la quantité de cc. 5 pour chacune renfermant d'autres schizomycètes, auraient pu encore végéter.

Pour ces essais j'ai préparé également comme contrôles un nombre correspondant d'éprouvettes renfermant 5 cc. de bouillon normal, pareillement glycériné à 5% et avec le même pH 8,2.

J'ensemençais le vibrion du choléra, le b. du typhus, le *micrococcus melitensis*, le b. de la diphtérie, le b. du charbon hématique, le *stafilococcus piogenus aureum*, le b. de Shiga, le *botriococcus* Petragnani, le b. prodigieux. Dans tous les cas il y eut un développement sensible; dans quelques-uns (Shiga, choléra, typhus, *stafilococcus*) il fut très considérable. Aucune différence de développement a été appréciable entre les éprouvettes de contrôle et celles préparées employant le bouillon des cultures tuberculaires. Le développement a été plutôt faible pour le microbe *Melitensis* et pour le b. diphtérique, soit dans les éprouvettes d'origines tuberculaire comme dans celles de contrôle; le b. prodigieux produisit dans les deux cas peu de pigment.

Le pH de 8,2 originaire descendit à 6,6 pour le choléra, à 6,2 pour le typhus, à 6,7 pour le prodigieux, à 6,8 pour le Shiga, à 5,8 pour le *botriococcus*, à 7,4 pour le charbon hématique, à 7,3 pour le *stafilococcus*. Il resta à 8,2 pour la diphtérie et augmenta à 8,7 pour le *Melitensis*. Dans les éprouvettes de contrôle correspondantes on eut des valeurs à peu près égales.

D'autres essais sont en cours moyennant ces cultures.

Institut d'Hygiène et Bactériologie de la R. Université de Sienne.

PETRAGNANI G. – **Le Phénol pur dissoudrait les corps bactériques?**

Au cours de recherches sur le moyen le plus convenable pour préparer les extraits de bacilles tuberculeux j'ai eu l'occasion d'observer qu'en plaçant sur une certaine masse de corps bacillaires, — convenablement raclée des cultures apprêtées sur mon milieu ou prélevées d'un bouillon de culture — une quantité donnée de phénol pur cristallisé correspondant à une vingtaine de fois le poids des corps bacillaires et en mélangeant de manière à faciliter le contact intime entre bacilles et phénol, celui-ci passe à l'état liquide tandis que la masse bacillaire se diaphanise et disparaît presque complètement dans le liquide même.

Lorsque le phénol cristallisé est donc en contact avec les corps bacillaires, il passe de l'état solide à l'état liquide, ainsi qu'avec une petite quantité d'eau ou d'alcool (dans cette transformation de l'état physique, il absorbe de la chaleur); mais on doit faire exception pour quelques flocons, certainement inférieurs, comme masse, aux corps bacillaires qu'on y a placé, et pour la couleur vert brillant qu'il prend quand on place l'enduit bacillaire raclé des cultures préparées sur mon milieu, ou pour la couleur jaunâtre dans le cas des patines bouillon-cultures.

Si l'on centrifuge pendant une heure (dans un centrifuge à 3000 tours la minute) ce phénol liquide avec des bactéries — ce que j'appellerai, par brièveté, « phénol bactérique » — et si nous mettons un cmc. de la partie liquide très limpide, dans un matras sec où nous versons 100 cmc. d'eau distillée, après avoir fortement agité nous obtenons un *liquide opalèscent*. Dans ce dernier nous voyons se séparer de petits flocons d'une substance vraisemblablement protéique, susceptible de se déposer à bout de quelques heures.

Lorsque ce même « *phénol-bactérique* », déjà centrifugé et très limpide, est filtré à l'aide d'une bougie Chamberland L 2, avec dépression de 40-60

cm. de mercure, il passe, après quelques minutes de résistance initiale. Si la bougie et la boule pour filtration étaient parfaitement sèches le liquide huileux que l'on recueille a les mêmes caractères que celui simplement centrifugé. *Si à un cc. de ce liquide très limpide, placé dans un balon bien sec, nous ajoutons 100 cc. d'eau distillée et nous agitons bien fort, nous obtenons un liquide trouble* presque semblable à celui du phénol bacillaire seulement centrifugé.

J'ai répété cet essai avec d'autre schizomycètes (bac. du typhus, bac. *coli*, staphylocoque, etc.) prélevés sur agar-cultures de 24 heures, dans lesquelles, avec l'adjonction de quelques gouttes d'eau, j'obtenais une suspension dense que je versais sur le phénol cristallisé, et j'ai noté également avec *la liquéfaction du phénol, la disparition du trouble dû aux bactéries.*

Dans ce cas également lorsque le « *phénol bactérique* », déjà parfaitement limpide après la seule centrifugation, était même filtré avec la bougie Chamberland et était aditionné dans la mesure de 1 cc. à 100 cc. d'eau distillée, il donnait un liquide trouble à cause de l'apparition de menus flocons et, une fois agité, il produisait une écume abondante.

En apprêtant avec une öse de « *phénol bactérique* » pur une préparation simple et en l'observant au microscope avec le meilleur éclairage pour apprécier la moindre forme de structure, nous ne pouvons noter aucun élément différenciable dans le champ parfaitement transparent.

Si avec la solution dans l'eau du « *phénol bactérique centrifugé* », surtout quelques jours après la dissolution dans l'eau, nous disposons une préparation microscopique sur une plaque de verre couvre-objets, en y plaçant une gouttelette que l'on fait sécher dans un thermostate; si nous fixons cette préparation avec trois passages rapides sur le bec Bunsen et nous la colorons avec la méthode Ziehl-Neelsen, en ayant soin de faire agir longtemps et à chaud la fuchsine carbolique, de décolorer avec l'acide sulfurique à 5%, de laver par de légers trempages dans de l'eau, puis, 2-3 secondes à peine, dans de l'alcool éthylique et coloration en bleu de méthyléne; si nous mettons tout le soin voulu dans le lavage et le passage dans les différents liquides afin d'éviter le détachage de la matière qui a une tendance à quitter la plaque de verre, nous trouverons dans la préparation, parmi les grains de substance amorphe colorée en bleu ou en fuchsine légère, de petits grumeaux granuleux de couleur rouge fuchsine plus intense et puis des bacilles acido-résistants un peu menus, d'autres très minces, d'autres granuleux, très réguliers et quelques-uns typiques, absolument comme les b. de Koch.

Dans le liquide dérivé du « *phénol bactérique* » seulement centrifugé, on rencontre ces bacilles acido-résistants, tout à fait semblables au b. de Koch, en un plus grand nombre que dans le liquide centrifugé et filtré,

et dans tous les deux le nombre des bacilles augmente, au bout de deux ou trois jours après la préparation de la solution aqueuse. Dans les préparations faites de suite après la solution dans l'eau on observe de petits blocs amorphes, des granules acido-résistants et des éléments bacillaires peu typiques. Dans toutes ces préparations on note également de petits bacilles bleus.

En faisant avec la même délicatesse des préparations microscopiques moyennant le « *phénol typhus* » coli, staphylocoque, etc. j'ai observé que les cocci se reforment en petites boules de différentes dimensions, qui conservent la résistance au Gram. Les bacilles du typhus, le b. *coli* se retrouvent par contre en nombre considérable avec des caractères morphologiques très précis et ils sont Gram-négatifs. Alors même que dans le phénol nous dissolvons en même temps des staphylocoques et des bacilles du typhus, dans les préparations avec le Gram nous trouvons que les formes bacillaires sont Gram-négatives et les boulettes Gram-positives. Dans le liquide « *phénol-bactérique* » centrifugé et filtré, le nombre des germes appréciables est de beaucoup moindre que dans celui avec du « *phénol bactérique* » seulement centrifugé.

Que doit-on en déduire? — Si l'on veut être orthodoxes, suivant les règles acquises à ce jour, on devrait admettre que le phénol diaphanise et isotonise les corps bacillaires, sans les détruire, de manière à les rendre, au point de vue optique, indifférents dans le milieu, non déplaçables par la force centrifuge, ni retenables à travers les pores des bougies poreuses, parce que dans cet état d'*homogénéité physique* ils ne subiraient pas l'attraction dans les parois des pores, du moins avec la même rigueur que dans les suspensions aqueuses, et les traverseraient en nombre considérable.

Institut d'Hygiène et Bactériologie de la R. Université de Sienne.

ASTUNI A. – **Expériences de phagothérapie dans les infections staphylococciques localisées.**

Ayant eu l'occasion de suivre de près, soit du point de vue clinique, soit de celui bactériologique et sérologique, 29 patients atteints de formes staphylococciques localisées et soignés selon la phagothérapie, en se servant de la voie directe (inoculation dans le corps de la tumeur inflammatoire ou bien, après avoir vidé le pus avec la seringue, dans la cavité de l'abcès) lorsque l'infection était encore fermée, et de la voie percutanée (médication avec de la gaze imbue de bactériophage) pour les lésions encore ouvertes, j'ai pu, entr'autre, constater ce qui suit:

Dans les infections fermées (23 cas), le bactériophage n'a jamais réussi à stériliser le foyer septique; par conséquent, si l'on excepte un très petit nombre de cas pour lesquels on eut la fistulisation spontanée, il a toujours fallu intervenir. Dans les infections presentant la lésion ouverte (6 cas), la médication avec le bactériophage n'a eu aucune action ni favorable ni contraire, sur le processus de détersion et cicatrisation des blessures.

Les 29 souches de staphylocoque, isolées des patients susdits, se sont toutes démontrées lysables « in vitro » dans un laps de temps moyen de 24 heures.

Pour presque tous les patients on fit aussi la recherche des antiphages, avant ou après la phagothérapie, ce qui a porté à la conclusion que le sérum de sang d'individus qui n'ont jamais été traités avec le bactériophage ne contient aucun antiphage: mais une seule inoculation de bactériophage par voie directe peut en provoquer l'apparition très rapide, parfois même en deux jours. En un cas d'ostéomyélite chronique du fémur on a expérimenté la désensibilisation avec l'autohémothérapie (Raiga); du point de vue clinique les résultats ont toutefois été nuls.

D'après mes observations, l'insuccès de la phagothérapie ne doit pas être attribué à l'inactivité du bactériophage dont on s'est servi, car, comme on l'a déjà fait observer, on a toujours obtenu la lyse « in vitro »; d'autre part il me semble qu'il ne faut pas non plus l'attribuer tel quel aux antiphages car, bien que leur apparition soit très rapide, ce laps de temps est toujours supérieur à celui nécessaire pour la lyse « in vitro ». Il me semble donc qu'il doit y avoir d'autres conditions, probablement locales, qui s'opposent depuis le commencement à la lyse « in vivo » en lui rendant l'ambiant défavorable. Pour vérifier l'exactitude de cette hypothèse, j'ai mêlé le bactériophage avec du pus staphylococcique, en différentes proportions, et j'ai ensuite laissé le tout au thermostate; je n'ai jamais obtenu la stérilisation du pus, tandis que les cultures en bouillon de souches de staphylococques étaient lysées avec rapidité et complètement.

Ces conditions qui empêchent la lyse « in vivo » ne sont pas encore bien connues, et selon toute probabilité elles sont nombreuses. Mais étant donné le fait que la lyse bactériophagique est trés sensible à la réaction du milieu, car une acidité même moindre suffit à l'empêcher complètement, cela porte à penser que le pH des tissus enflammés y ait une part assez importante. Il est connu, en effet (Schade, Neukirsch et Halpert) que les tissus enflammés à l'état simplement infiltratif ont déjà une réaction faiblement acide, qui devient nettement acide aux indicateurs ordinaires pour le pus des abcès chauds.

Cette cause, je tiens à le répéter, n'est probablement pas l'unique

condition qui empêche la lyse « in vivo »; mais ceux qui connaissent le bactériophage savent qu'elle peut suffire, à elle seule, à l'empêcher complètement.

Plus tard je communiquerai les résultats obtenus en me servant d'un bactériophage préparé selon une technique particulière et en le portant en contact avec des tissus infectés et avec des récoltes purulentes préparées, à l'avance, de façon à obtenir une lyse plus efficace et plus rapide.

Clinique chirurgicale générale de l'Université Royale de Milan.

BONANNO A. M. – **Pouvoirs immunitaires et défenses de l'organisme au cours de l'infection expérimentale du cobaye entretenu avec un régime alcalosique et acidosique.** (Première Note).

Dans le but d'investiguer si les modifications de l'équilibre acido-basique agissant sur les processus biochimiques exercent une certaine action sur les pouvoirs immunitaires de l'organisme, on a institué un cycle de recherches qui visent à étudier les différents aspects du processus immunitaire de l'organisme à côté d'autres éléments de l'échange général, tels les modifications hématologiques et plasmatiques et les altérations du réticulo-endothélium de quelques organes.

Ces recherches sont d'autant plus intéressantes, puisqu'elles nous consentent de connaître, en pathologie humaine, l'évolution particulière de quelques infections lorsque des altérations de l'équilibre acido-basique de l'organisme sont pré-existantes (par ex. la tuberculose et les processus purulents aigus au cours du diabète), mais encore parce qu'aujourd'hui on tend à se servir de ces modifications dans un but thérapeutique (par ex. dans la tuberculose, dans l'épilepsie, dans les processus purulents, dans les dermatoses, etc.).

Or, en administrant un régime approprié à des cobayes et à des lapins, pendant un delai de temps plus ou moins long, on est parvenu à déterminer des modifications de l'équilibre acido-basique, modifications qui intéressaient surtout la R. A., la pH des urines, et, plus modiquement, le pH du sang.

Nous allons relater ici les recherches concernant le comportement du pouvoir phagocytaire et bactéricide dans le sang des lapins, avant l'administration du régime acidosique et alcalosique, et après 15-30 jours du régime même.

En outre nous rapporterons les recherches qui se rattachent aux

pouvoirs immunitaires du lapin (le pouvoir bactéricide et phagocytaire dans le sang et le pouvoir bactéricide et opsonique *in vitro* de quelques extraits d'organes), l'animal étant en cours d'infection expérimentale par staphylocoque, et enfin nous parlerons à propos de l'étude histologique du S. R. E. de quelques organes.

Pour ce qui se rapporte au pouvoir bactéricide et phagocytaire du sang, avant le début du régime et 15-30 jours après, nous pouvons affirmer que, dans l'ensemble, les animaux des deux groupes ont différemment repondu aux réactions que nous venons d'avoir étudiées. En effet, les lapins soumis à un régime alcalosique ont réagi avec une augmentation du pouvoir bactéricide, phagocytaire et opsonique, augmentation que, chez quelques uns des animaux, se montrait déjà au bout de 15 jours du régime, tandis qu'après avoir prolongé ce dernier on n'a constaté aucune influence dans le sens d'une augmentation successive des valeurs.

Chez les lapins soumis au régime acidosique on a constaté une diminution du pouvoir phagocytaire et bactéricide.

Les réactions immunitaires étudiées au cours de l'infection expérimentale par staphylocoque chez les lapins à régime alcalosique et acidosique, sacrifiés à des heures diverses à partir de l'injection du germe afin d'étudier *in vivo* et *in vitro* les pouvoirs immunitaires du sang, aussi bien que de quelques organes, montrent des valeurs plus élevées; parfois ces valeurs sont supérieures à celles que l'on rencontre dans les lapins appartenant au groupe témoin, parmi les animaux soumis au régime alcalosique. Même la réaction leucocytaire au cours de l'infection expérimentale est plus prononcée, sans que l'on puisse observer la phase négative qui, en général, apparaît lors de la sixième heure dans le lapin normal ou dans celui qui est entretenu à un régime acidosique.

Pour ce qui en est au comportement du S. R. E., la réaction produite à cause de l'infection est moins marquée dans les lapins appartenant aux deux groupes, en comparaison de ceux qui appartiennent au groupe du contrôle.

Les recherches que nous avons relatées tout à l' heure en abrégé montrent une différente reponse réactive immunitaire de la part des lapins chez lesquels on modifie l'équilibre acido-basique.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin. Laboratoire de recherches scientifiques de l'Hôpital « Maria Vittoria ».

BONANNO A. M. – **Influence de l'alimentation acidosique et alcalosique sur le pouvoir complémentaire du sérum de cobaye.** (Deuxième Note).

Etant donné l'importance que le complément exerce dans la défense de l'organisme, l'étude du pouvoir complémentaire du sérum d'un animal soumis au régime acidosique et alcalosique, non seulement vient à compléter les recherches sur l'équilibre des défenses immunitaires, mais vise à contrôler celles, vraiement peu nombreuses, qui existent déjà sur l'argument.

En effet, dans le champ expérimental, M. La Grutta après avoir provoqué un état d'acidose dans le cobaye, en injectant de l'acétone, de l'acide acétoacétique, du butyrrathe sodique, a constaté une diminution du pouvoir complémentaire. D'autres AA. ont remarqué, en des conditions expérimentales diverses et en de différentes conditions physiopathologiques de l'homme qui sont accompagnées de modifications de l'équilibre acido-basique (fatigue musculaire, pancréasectomie, acidose lactique et acétonique) l'existance de modifications du pouvoir complémentaire.

Le dosage du pouvoir complémentaire, pratiqué au cours des recherches actuelles, a été déterminé chez le cobaye avant le début du régime acidosique et alcalosique et après 20 jours de ce régime. Les résultats que l'on a obtenu chez un nombre assez grand de cobayes, pour chaque groupe, ont mis en évidence dans les animaux appartenant au groupe à régime alcalosique des modifications modiques du pouvoir complémentaire: par contre, dans le groupe de cobayes soumis au régime acidosique pendant 20 jours, on remarqua une diminution évidente du pouvoir même. Lorsque les cobayes appartenant au groupe entretenu avec un régime acidosique, et chez lesquels on avait constaté la diminution du pouvoir complémentaire au bout de 20 jours du régime, ont été soumis à une alimentation ordinaire pendant 6 jours, ils ont présenté un pouvoir complémentaire presque identique aux valeurs obtenues avant le commencement du régime.

L'interprétation de la diminution du pouvoir complémentaire chez les cobayes entretenus avec une alimentation acidosique est très difficile, car on ne connait pas l'essence même de cette caractéristique du sérum. Les différentes hypothèses avancées jusqu'ici, et même celle qui fut tout récemment posée par M. Lipkin, suivant laquelle le pouvoir complémentaire devrait être considéré comme l'expression de la fonction du S. R. E., sont bien loin d'être démontrées. On pourrait plutôt prendre en considération l'hypothèse d'après laquelle le complément n'est pas constitué

par un élément définible dans le sens chimique, mais il serait plutôt lié à un état particulier du complexus colloïdal du sérum, susceptible d'être altéré moyennant des agents physiques et chimiques.

En admettant cette hypothèse, on devrait considérer les modifications du pouvoir complémentaire chez le cobaye, consécutivement à un régime acidosique, comme étant déterminées par des modifications colloïdales par suite des modifications de l'échange minéral et des albumines du sérum, que le régime acidosique serait à même de provoquer.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin. Laboratoire de recherches scientifiques de l'Hôpital « Maria Vittoria ».

BONANNO A. M. – **Formation d'agglutinines dans le cobaye soumis au régime acidosique et alcalosique.** (Troisième Note).

M. Homer Swift a institué des recherches à propos d'une action éventuelle sur la formation des anticorps, consécutive à l'administration de substances aptes à modifier l'équilibre acido-basique. Cet A. a fait ses études sur le lapin, afin d'établir si l'influence favorable de l'administration de salicylate sodique dans le rhumatisme articulaire aigu aurait dû être attribuée à une exaltation des pouvoirs immunitaires. En effet il a remarqué que le salicylate de sodium (qui, d'après les recherches de plusieurs AA. – parmi lesquels il y a MM. Langmead, Delore, Gamma et Cipriani – produit un état d'acidose) diminue, d'une façon remarquable, la formation des anticorps.

Moi, j'ai étudié la formation des agglutinines chez le lapin, consécutivement à l'injection d'antigène bactérien (b. d'Eberth), pratiquée par voie sous-cutanée à des lapins entretenus avec un régime acidosique et alcalosique depuis cinq jours et pendant toute la période de temps nécessaire pour la formation des agglutinines. Ces recherches ont été pratiquées en même temps sur un groupe de lapins de contrôle.

D'après les résultats que j'ai obtenu, on peut remarquer que chez le groupe de lapins témoins le taux agglutinant oscillait entre une dilution de 1: 1200 et de 1: 1400, tandis que dans le groupe de lapins à régime alcalosique il était de 1: 1000-1200 et, par contre, dans les lapins appartenant au groupe acidosique il oscillait entre 1: 200 et 1: 400.

Étant donné la constance des résultats obtenus chez les lapins appartenant aux différents groupes, et la différence considérable du taux agglutinant des lapins du groupe à régime acidosique en comparaison

du taux des lapins témoins, tout en connaissant la variabilité individuelle des lapins par rapport à la formations des anticorps, nous croyons de pouvoir conclure à une action nuisible que le régime acidosique exerce sur la formation des agglutinines.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin. Laboratoire de recherches scientifiques de l'Hôpital « Maria Vittoria ».

BONANNO A. M. – **L'influence du régime acidosique et alcalosique sur la tuberculose expérimentale du cobaye.** (Quatrième Note).

Depuis l'introduction dans l'arsénal thérapeutique de la tuberculose humaine, de régimes spéciaux qui, dès leur début, ont été considérés capables de modifier l'équilibre acido-basique, l'étude de l'influence de certains types d'alimentation aptes à modifier l'équilibre acido-basique au cours de la tuberculose expérimentale a présenté une importance tout à fait particulière. De l'autre côté, dans le champ bactériologique, l'influence du milieu sanguin sur l'évolution d'une infection n'a pas été bornée à la tuberculose, car on a pu démontrer, par ex., un différent développement du pneumocoque, dans un poumon ayant une concentration de Na Cl élevée, développement qui, parfois, est même empêché.

Les lésions tuberculeuses péritonéales provoquées dans le cobaye (ainsi qu'on va décrire à propos de ces recherches), moyennant l'injection intra-péritonéale d'une suspension de mycobactérie de tubercule, tout en n'étant point comparables aux différentes localisations de la tuberculose chez l'homme, présentent quand même une analogie éloignée avec celles-ci, car, ayant recours au régime acide ou alcalin on se propose d'influencer, à travers des modifications de l'équilibre électrolytique, le développement du processus morbide.

Les recherches dont il est question, ont été pratiquées sur dix cobayes pour chaque groupe, auxquels on avait ajouté un groupe contrôle. Les cobayes ont été soumis à une alimentation acidosique et alcalosique pour 20 jours avant l'injection de la mycobactérie et pendant tout le temps de leur survivance. La mycobactérie du tubercule injectée provenait d'une culture de crachat humain, préparée sur milieu de Petragnani.

Maintenant on peut synthétiser les résultats obtenus, come suit: chez le groupe de 10 cobayes soumis au régime acidosique, la mortalité commence précocement, c'est-à-dire 15 jours après l'injection intra-péritonéale de la suspension bactérienne, de sorte que dans le delai de 27 jours tous les dix animaux succombent.

Quant aux cobayes appartenant au groupe soumis au régime alcalosique, la mortalité va commencer aussi précocement (20 jours après l'injection) et les animaux succombent dans un delai de 42 jours.

Dans le groupe témoin, quelques cobayes seulement succombent au bout d'un mois à partir de l'injection; avant que tous les animaux soient morts, il se passe 95 jours.

Pour ce qui concerne les lésion anatomiques, en laissant de côté la diffusion des lésions mêmes, elles se sont montrées presque uniformes dans les différents groupes, sans-présenter des caractéristiques particulières pour chaque groupe, et portant toutes – chez tous les animaux – sur le péritoine, sur les glandes inguinales, les glandes hilaires et sur celles qui se trouvent le long du trajet lombo-aortique: dans certains cas les lésions intéressaient le poumon, le foie, la rate.

De la sorte, les différences constatées parmi ces groupes diverses, se rapportent donc au delai de temps pendant lequel le cobaye tuberculisé a survecu, plutôt qu'aux lésions anatomiques. Ce delai a été court pour les cobayes appartenant au groupe à régime acidosique, plus long pour ceux qui appartenaient au groupe à régime alcalosique, mais pour tous les deux groupes il a été de beaucoup inférieur à celui qu'on avait remarqué pour le groupe contrôle.

Dans le but d'établir si la sensibilité plus considérable démontrée par les cobayes appartenant au groupe acidosique, vis-à-vis de la mycobactérie du tubercule se manifestait aussi par rapport à d'autres infections, j'ai injecté, moyennant le *b. pyocianeum* un groupe de cobayes que l'on entretenait, depuis quelques temps, à une alimentation acidosique et alcalosique. Or, je n'ai pas remarqué une considérable différence de résistance vis-à-vis d'une même dose de *b. pyocianeum*.

Des recherches pratiquées, on peut donc logiquement inférer que la différente virulence de la mycobactérie du tubercule chez les cobayes à régime acidosique et alcalosique, en comparaison de ceux du groupe contrôle, ne doit pas être imputée exclusivement à l'état d'infériorité dans lequel se trouvent les cobayes des deux groupes, à cause du régime; très vraisemblablement, cette différence de virulence doit être rapportée plutôt aux conditions humorales diverses, déterminées par les deux types d'alimentation.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin. Laboratoires de recherches scientifiques de l'Hôpital « Maria Vittoria ».

BONANNO A. M. – **Influence de l'alimentation acidosique et alcalosique sur l'anaphylaxie par sérum de cheval.** (Cinquième Note).

Les nombreuses recherches que l'on vient d'avoir pratiquées dernièrement, aussi bien que les interventions thérapeutiques conseillées, attribuent à l'équilibre acido-basique une valeur particulière dans le déclanchement du choc anaphylactique.

MM. Arloing et Vauthej, Billard, Mongeot et d'autres encore, avaient déjà démontré que l'injection pratiquée à l'animal de laboratoire, moyennant l'eau provenant de certaines sources auxquelles on fait recours, en France, dans un but thérapeutique, déterminait la diminution, ou même entravait le déclanchement du choc anaphylactique lorsque l'injection en question était pratiquée peu de temps avant l'injection déchaînante. D'après les AA. susmentionnés, l'action que ces eaux différentes exercent vis-à-vis du choc anaphylactique, serait due au fait qu'elles contiennent des substances alcalines, et cette action serait d'autant plus prononcée que le contenu en substances alcalines est remarquable.

Les recherches expérimentales conduites par MM. Pesci et Eggstein ne s'éloignent pas trop des recherches susdites; en effet, ces AA. sont parvenus, à l'aide d'une injection de bicarbonate de sodium, avec une solution de N. 100 de Na OH, à inhiber ou, du moins, à atténuer, le choc anaphylactique par sérum de cheval ou par la peptone; tandis qu'il paraît que l'injection de solutions acides ne produise pas un empirement de la symptômatologie vraiment imposante, qui s'accompagne au choc anaphylactique.

L'on connaît encore les modifications humorales qui s'accompagnent au choc anaphylactique et qui consistent dans la diminution de la R. A., dans l'abaissement du pH du sang, parfois jusqu'aux valeurs acides.

C'est pourquoi j'ai estimé utile d'étudier l'influence d'un régime acidosique et alcalosique prolongé pendant 10 jours avant l'injection préparante et pendant 20 jours d'incubation. J'ai naturellement institué aussi un groupe de témoins. Les cobayes des différents groupes avaient tous presque le même poids. Pour la sensibilisation des animaux j'ai employé du sérum de cheval récemment prélevé.

Voici les résultats que j'ai obtenus:

Des dix cobayes appartenant au groupe contrôle, seulement six ont succombé, après avoir présenté une symptômatologie grave. Chez les autres quatre animaux on a eu un choc anaphylactique sérieux. Des dix animaux appartenant au groupe à régime alcalosique, seulement 5 sont mort en présentant de graves symptômes. Les autres cinq ont été atteints

par le choc anaphylactique dont l'intensité a été, dans son ensemble, moins prononcée que chez le groupe témoin. Des dix cobayes du groupe à régime acidosique, huit ont succombé. Les autres deux ont présenté une symptômatologie grave.

D'où il ressort que, tout en ayant des conséquences plus funestes du choc anaphylactique chez les cobayes appartenant au groupe à régime acidosique, l'alimentation alcalosique n'empèche pas les graves suites du choc anaphylactique même.

Les différences remarquées entre les résultats obtenus par les recherches dont il est discours, et ceux qui ont été obtenus par certains AA. en injectant, immédiatement avant de pratiquer l'injection déchaînante, des substances alcalines, peuvent être expliquées par le fait que les modifications apportées dans le sang de l'animal à expérience dans un sens alcalosique, ont atteint, dans les cobayes que j'ai traités, un dégré différent de celui qu'elles ont atteint chez les animaux injectés avec une substance alcaline immédiatement avant l'injection déchaînante.

Toutefois, dans le phénomène complexe du choc anaphylactique, les modifications de l'équilibre acido-basique se manifestant au cours du choc même, font partie de la perturbation de l'équilibre colloïdal consécutive à l'injection déchaînante; on ne peut donc pas les identifier avec l'essence même du phénomène.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin. Laboratoire de recherches scientifiques de l'Hôpital « Maria Vittoria ».

VERDINA C. – **Modifications immunitaires cycliques printanières chez les tuberculeux pulmonaires.**

Le but de ces recherches a été celui d'étudier du côté immunitaire, moyennant les déterminations du pouvoir bactéricide du sang répétées en séries sur les mêmes sujets frappés de lésions tuberculeuses pulmonaires, le phénomène, bien connu par presque tous les thysiologues et par les malades mêmes, des fréquentes manifestations évolutives ou de rechute, qui se produisent cycliquement pendant la période printanière.

Plusieurs Auteurs ont déjà étudié, du côté clinique, ce phénomène très important et complexe, parce que dans les Instituts de cure le fait que des petites poussées évolutives se manifestent constamment au printemps chez des sujets porteurs de lésions torpides et stabilisées, est tellement caractéristique qu'on ne peut le croire simplement fortuit.

Il m'a donc semblé intéressant d'étudier systématiquement ce phé-

nomène du côté immuno-biologique, surtout parce que à ce sujet il n'existent que les recherches hématologiques de Stephani et Trouard-Riolli.

Ces AA. ont choisi 98 patients et les ont suivi cliniquement (auscultation, poids, examens radiologiques) pendant une certaine période de temps (au moins un an), en pratiquant de temps en temps l'examen de l'expectoration, la sédimentation des hématies, et le comportement de la formule de Arneth: ils ont attribué une valeur fondamentale à cette épreuve pour juger de l'état de résistance de l'organisme, car d'après des recherches qu'ils ont précédemment publiées, une déviation à gauche serait une caractéristique sûre que l'état défensif organique est en train de baisser.

L'examen des courbes dressées d'après les données fournies par la formule d'Arneth, a démontré que le phénomène était nettement positif (déviation vers gauche) pour 84 cas (85,7 %); pour 11 cas le phénomène avait eu lieu d'une façon irrégulière, qu'il fallait considérer douteuse (16,6 %): pour trois cas le phénomène était négatif (3,07 %.

Dans le but d'étudier ce phénomène, à l'aide de mes recherches, avec la plus grande exactitude, j'ai choisi comme méthode de recherche celle du pouvoir bactéricide du sang; cette méthode est sans doute le plus rigoureuse et fournit les données les plus précises et les plus fidèles sur l'état immunitaire et sur les pouvoirs de défense de l'organisme.

Je me suis servi de la technique (sang « in toto ») que j'ai déjà proposée et illustrée dans d'autres communications, et qui a permis aussi à d'autres savants (Blavet, Anglesio, Bonanno, Debenedetti) d'obtenir des résultats satisfaisants.

En voici, brièvement, la description.

On prépare d'après une culture de bacilles du tubercule, isolés directement des expectorations et au 21ème jour de développement, sur un terrain solide, une suspension bactérienne parfaitement homogène.

Les masses de bacilles doivent être donc réduites en bouillie très fine dans un mortier d'agate stérile, en leur ajoutant goutte à goutte de la solution physiologique au citrate, stérile (pH = 7,8): on bat pendant 15 minutes à peu près, et on centrifuge enfin longtemps à grande vitesse.

On aspire avec soin le liquide qui surnage dans les éprouvettes, on le filtre sur un filtre double de papier Whatman N. 5, stérile, et on obtient ainsi une solution parfaitement homogène: en l'examinant au microscope on aperçoit que les éléments bacillaires sont isolés les uns des autres et que, tout au plus, il y a, très rarement, de petits amas de deux ou trois éléments au maximum.

Il faut ensuite diluer cette suspension en y ajoutant la solution physiologique susdite, jusqu'à ce qu'en en examinant une goutte au microscope, on puisse facilement compter les bacilles qui s'y trouvent.

On verse alors dans deux petits tubes stériles des quantités égales de cette suspension (1,5 cc.) et l'on ajoute, toujours dans les mêmes proportions (1,5 cc.), dans l'un le sang qu'on est en train d'examiner, et dans l'autre de la solution physiologique stérile préparée comme il a été dit plus haut: elle sert comme contrôle. On agite souvent pour obtenir un mélange uniforme et on met le tout au thermostate à la température constante de 38°, pendant 12 heures.

Après avoir laissé passer ce laps de temps, on agite à nouveau les petits tubes, et, en se servant de pipettes stériles égales et ayant l'extrémité capillaire, on laisse tomber un certain nombre de gouttes, égal pour les deux mélanges, respectivement sur 3 plaques contenant du terrain de Petroff solidifié en prenant soin que le liquide coule sur la surface du terrain de culture, pour que les germes se répandent sur une zone la plus grande possible.

Pour éviter que les plaques ainsi préparées se séchent il faut les renverser dans un récipient cylindrique en verre contenant au fond un peu d'eau formolisée. La fermeture de ce récipient doit être hérmétique, ce qu'on obtient en lutant les bords du couvercle avec de la paraffine. Enfin on le maintient dans un thermostate à la température constante de 38°, pendant 25 jours.

Après cette période de temps on compte dans chaque groupe de trois plaques, le nombre des colonies visibles à l'oeil nu et à l'aide d'une loupe, on en fait la moyenne et on compare (d'un côté) les données fournies par la suspension mise en contact avec le sang, et celles obtenues d'après l'autre contenant la simple solution physiologique à titre de contrôle.

Le rapport moyen qui en résulte indique la valeur du pouvoir bactéricide du sang.

Les expériences ont été faites pendant le triennat de 1928 à 1930, chez des malades atteintes en partie de processus infiltratifs tuberculeux pulmonaires du type fibro-sclérosant, non généralisés et en état de compensation, et porteuses de pneumothorax déjá constitué ou de posthumes de phrénico-exérèse.

On choisit des sujets qui présentaient un degré déterminé de stabilisation contrôlée pendant un certain laps de temps et dont le trophisme général n'était pas compromis.

Les cas pour lesquels on commença, au cours de ces observations, des thérapies spéciales furent éliminés.

On pratiqua pour trois fois, successivement, 5 jour après avoir commencé les expériences, les déterminations du pouvoir bactéricide, pour en établir la valeur moyenne; on les répétait ensuite deux fois par mois (le 1er et le 15). Ces recherches, qui avaient été commencées au mois d'octobre, furent continuées systématiquement jusqu'à la fin du mois de Mai.

Il faut remarquer ici que plusieurs déterminations chez différentes patientes ayant démontré que le comportement bactéricide du sang, pendant la période automnale, est toujours sujet à des variations inconstantes et irrégulières, la période d'observation au cours des expériences successives fut toujours limitée aux mois mentionnés.

On suivit, en total, 70 patientes. Pour 36 (51%) on observa l'apparition de manifestations générales et locales que l'on pouvait cliniquement rapporter à une rechute évolutive: pour les 34 autres on n'eut aucune manifestation clinique particulière.

La détermination du pouvoir bactéricide fournit les résultats suivants: pour 13 cas (18,6%) aucune modification; pour 32 cas (45,7%) de légères variations; pour 25 cas (35,7%) des modifications remarquabbes et prononcées.

Des 32 cas, dont le pouvoir bactéricide était légèrement diminué, 19 présentaient en même temps des manifestations cliniques, tandis que 13 étaient restés inaltérés: sur les 25 cas ayant un pouvoir bactéricide fortement diminué, 17 présentaient en même temps des manifestations cliniques, et 8 aucune: en total donc, le phénomène fut observé 57 fois (81%) en rapport avec le pouvoir bactéricide et précisément en plus des 36 cas présentant aussi les manifestations cliniques, il y en avait 21 (30%) pour lesquels il ne s'était produite aucune de ces manifestations.

Les résultats que j'ai exposés démontrent que pendant le printemps il se produisent, souvent chez des sujets tuberculeux, pour des causes qui ne sont pas encore bien définies mais qui, très probablement, dépendent de facteurs climatiques, des modificatiosn de la résistance générale qui ne sont pas toujours accompagnées de manifestations cliniques ayant les caractères de poussées évolutives.

L'étude systématique du pouvoir bactéricide du sang nous montre que ces états de déséquilibre immunitaire dépendent de la diminution de certains pouvoirs défensifs spécifiques de l'organisme humain, et nous donne une explication de l'ensemble des variations cliniques (générales et locales) ayant un caractère presque cyclique et que l'on observe, au printemps, chez des patients tuberculeux.

De l'Institut Climatique de la Croix Rouge Italienne, « Eremo di Lanzo ».

DENES G. – **Recherche du parasite malarique dans le sang veineux.**

Pendant la saison d'été avancée, affluent nombreuses, au Laboratoire, les demandes de diagnose de différentes formes infectieuses (infections typhiques, paratyphiques, brucelloses, malariques).

Naguère, l'envoi de sang s'effectuait dans de petits tubes capillaires où l'on recueillait à peine quelques gouttes de sang. La petite quantité de sérum empêchait, par suite, d'exécuter toutes les recherches diagnostiques. Pour le diagnostic du paludisme on a l'habitude d'envoyer une ou deux frottis de sang, préparés en toute hâte, collés l'un contre l'autre et sur ces frottis la recherche du parasite malarique devient vraiment difficile.

Nous avons complètement abandonné ces méthodes. Nous demandons le prèlèvement du sang de la veine mediane, au moment de la plus grande pyrexie. Le sang, en quantité de 5-10 cc. est recueilli dans un tube d'essai stérilisé (mm. 80×16), en verre épais et envoyé au Laboratoire.

Voici la technique suivie: le tube contenant le sang est placé dans un thermostate et laissé sérer. Il se forme ainsi: 1) le *sérum*; 2) le *grumeau* de sang et 3) le dépôt constitué d'hématies et de quelques leucocytes, dépôt qui se forme au fond de l'éprouvette.

Avec une pipette stérilisée, longue et effilée (pipette Pasteur) on aspire le sérum qui se recueille au-dessus et sur les côtés du grumeau de sang. Ce sérum est plus que suffisant pour les différentes réactions sérologiques (R. Widal, etc.). Avec la même pipette, ou bien avec une autre pipette stérilisée, on aspire le *dépot* et la petite quantité de sérum qui reste au fond. Le tout est recueilli dans une petite éprouvette conique et l'on centrifuge à 1500-2000 tours pendant deux minutes. On aspire le sang qui s'est séparé nettement de la petite quantité de sérum et l'on prépare plusieurs frottis sur des verres porte-objets et, si l'on veut, on y dispose une ou deux gouttes épaisses. On sèche les verres à l'air et on colore avec la méthode ordinaire May-Gruenwald-Romanowsky ou de Laveran. Les globules rouges et les parasites malariques, spécialement les gamets et les schizontes du *Pl. falciparum* se présentent bien conservés, même après 48-72 h. De cette manière nous obtenons une réelle augmentation des parasites que l'on trouve en grand nombre, même dans les frottis minces.

Le *grumeau* de sang qui reste dans l'éprouvette pourra servir pour l'examen cultural. Avec des précautions aseptiques on place le grumeau dans une éprouvette contenant de la bile (bile peptonée) et, après 24-84 h. on transplante une öse sur les milieux d'élection pour le groupe typhus-coli (plaques de Drigalsky-Conradi-Endo ou Gassner).

Pour la *concentration* (enrichissement) du parasite malarique on a imaginé diverses méthodes. Nous citerons celle de Bass et Johns, qui se servent de sang citraté et l'adjonction de solution de dextrose ou de maltose. La méthode de Tribondeau et Dubreuil se base sur l'emploi de l'alcool au tiers, avec lequel on élimine l'hémoglobine. Parmi les tentatives de culture celle de Bass (sang défibriné et dépourvu de leucocytes avec adjonction de dextrose) semble valoir seulement à prolonger la vitalité des parasites, ce qui arrive précisément en employant du sang citraté (Sinton, Kanders, Perony) ou novirudiné (Dalma, Tuchtan). Nous pouvons également préparer la goutte épaisse avec le sang veineux déposé. Ruchadse avait proposé d'incliner le petit verre à 40°-60° avec la goutte épaisse et de chercher les parasites dans la partie inférieure, basse, de la goutte. Suivant l'A,. les globules rouges, chargés de parasites, se recueillent spécialement dans le bas. Nous avons, en effet, observé que l'éprouvette contenant le sang veineux, après le dépôt, présente dans le fond de nombreux globules rouges chargés de parasites. Ces globules rouges appartiennent toutefois aux globules rouges dits « cuivrés ». rapetissés et caractéristiques du paludisme d'été-automne (*Pl. falciparum*). Nous considérons que le dépôt se produit par suite de leur plus grand poids spécifique. Les globules rouges parasités de *Pl. vivax* et *Pl. malarie* auraient, d'après Bass, un poids spécifique moindre.

Concluant: la méthode de recherche proposée par nous, à savoir rechercher les parasites malariques dans le sang veineux, séré, déposé et centrifugé, présente des avantages considérables. Avec un seul prélèvement on peut exécuter une série de recherches (sérologiques, culturales et microscopiques) et en même temps on obtient une concentration du parasite malarique dans le dépôt hématique.

Laboratoire Provincial d'Hygiéne et de Prophylaxie de Padou.

CAPORALE L. – **Contribution à l'étude sur l'équilibre des défenses immunitaires dans la réinfection expérimentale par B. Prodigiosum.**

Dans une série de travaux publiés récemment par Azzi et son école (Giornale di Batter. ed Imm., Juin 1931) ont été pris en considération les différents problèmes concernant les défenses immunitaires dans l'infection expérimentale, résumant et coordinant tout ce que de nombreux Auteurs ont fait dans cette matière pour les divers procédés immunitaires.

Faisant suite à ces recherches, j'ai voulu prendre en considération,

dans le présent travail, l'équilibre qui s'établit entre les différentes défenses immunitaires que l'organisme emploie pour sa défense dans la réinfection expérimentale.

Comme germe pour provoquer l'infection je me suis servi du *B. prodigiosum* de la collection du laboratoire, et comme animal à infecter, du lapin.

L'animal était inoculé par voie intraveineuse avec un cm. cube de suspension bactérique obtenue en diluant une öse bactérique en dix c. c. de solution physiologique stérile. L'injection était répétée pendant trois jours consécutifs et après la troisième injection on sacrifiait l'animal au bout d'un laps de temps, depuis la dernière injection, respectivement de douze, vingt-quatre, quarante-huit, soixante-dix-huit, quatre-vingt-deux, quatre-vingt-seize, cent-trente heures. Pour chaque expérience on sacrifiait trois séries d'animaux, en recherchant chez eux:

1) le nombre de globules blancs du sang;
2) le pouvoir phagocytaire;
3) le pouvoir agglutinant du sérum de sang;
4) la distribution des germes dans le sang;
5) le pouvoir bactéricide du sang;
6) la distribution des germes dans les tissus (foie, rate, rein, thymus, thyroïde, testicule, peau, muscle);
7) le pouvoir bactéricide des extraits d'organe.

Au terme établi pour sacrifier le lapin je préparais, préalablement, tout le matériel stérile nécessaire.

Je partais d'une suspension-mère (liquide *A*) obtenue en diluant une öse d'enduit bactérique d'une culture de 24 heures dans un cc. de solution physiologique citratée à l'un pour cent. De cette première suspension, convenablement diluée avec une solution physiologique citratée, je passais à d'autres suspensions jusqu'à l'obtention de celles que je considérais comme aptes à la réussite de mes expériences et que, pour plus de clarté, j'ai appelées par les termes de liquide *A*-4, *A*-5, *A*-6, contenant la première (liquide *A*-4) environ 5 mille germes par cc. la deuxième (liquide *A*-5) environ 2.500 germes par cc., la troisième (liquide *A*-6) environ 500 germes par cc.

Au moment de l'expérience je saignais l'animal, en prélévant du coeur environ 10 cc. de sang que je distribuais de la manière suivante: 1 cc. je le versais dans un tube d'agar fluide qui, étendu sur une capsule de Petri, me servait pour l'essai de la *bactériémie*; un autre cc. je le mélangeais avec trois cc. de suspension bactérique (liquide *A*) qu'après 40 minutes de séjour dans le thermostat, je distribuais sur des plaquettes de verre porte-objets pour l'essai du *pouvoir phagocytaire*; 2 cc. placés

dans un tube de centrifuge se mettaient à sérer pour la recherche du pouvoir *agglutinant.*

Le reste, versé dans un matras stérilisé, avec des perles de verre défibriné était employé pour la recherche du *pouvoir bactéricide* du sang.

Dans ce but j'essayais un cc. de sang défibriné avec un demi-volume de liquide *A*-4, *A*-5, *A*-6.

Le mélange placé dans le thermostat pendant 24 heures etait mélangé avec de l'agar fluide et distribué sur capsule de Petri que je laissais à la température ambiante. En même temps je préparais des plaques de seul agar avec un demi-volume de liquide *A*-4, *A*-5, *A*-6. Après 24 heures je comptais les colonies de chaque plaque et le rapport entre le nombre des colonies de la deuxème série (liquide *A*-4, *A*-5, *A*-6) et le nombre des colonies de la première série (liquide *A*-4, *A*-5, *A*-6 plus du sang défibriné) m'indiquait le pouvoir bactéricide du sang à l'examen.

Ayant sacrifié l'animal et ouvert son abdomen, j'enlevais, le plus stérilement possible, des morceaux de foie, de rate, de rein, de thyroïde, de thymus, de testicule, de muscle, de peau, qui étaient séparés en deux groupes distincts: organes du Groupe *A*-*B*; qui étaient placés dans des pèse-filtres stériles. Les organes du groupe *A*. étaient successivement hachés longuement dans de petits mortiers stérilisés moyennant de la poudre de quartz formant une suspension avec l'adjonction, à petites doses, de quatre volumes de solution physiologique stérile. On laissait déposer pendant quelques minutes et, prélevant du liquide supérieur deux cc., on préparait des plaques avec l'agar pour la détermination de la distribution des germes dans chaque organe.

Traitant également les organes du groupe *B* comme précédemment, on en faisait des suspensions dans la proportion de 1 :2 avec de l'eau distillée stérilisée et, transvasées dans des tubes de centrifuge, je les plaçais dans une glacière pendant 24 heures. Après ce temps je centrifugeais pendant une demi-heure et j'aspirais ensuite deux volumes de la partie supérieure de la suspension d'organes du groupe *B* et je les essayais avec un volume du liquide *A*-4, *A*-5, *A*-6.

Je les conservais dans le thermostate pendant 4 heures et je préparais ensuite des plaques avec de l'agar. En même temps, comme contrôle, je mêlais à de l'agar fluide un volume du liquide *A*-4, *A*-5, *A*-6. Après ce temps je comptais les colonies et d'après le rapport du nombre des colonies comptées dans la deuxième série (liquide *A*-4, *A*-5, *A*-6) et la première série (liquide *A*-4, *A*-5, *A*-6 plus extrait d'organe) j'établissais le pouvoir bactéricide des divers organes examinés.

En résumant brièvement, dans cette note préalable, les conclusions auxquelles m'a conduit l'examen des résultats obtenus dans mes expériences:

1) Dans la réinfection expérimentale par *B. Prodigiosum* on observe, dès les premières heures, un nombre considérable de germes dans le sang qui atteint son maximum vers la 24.ème heure. En général, après 48 heures à partir de la dernière injection, les germes disparaissent rapidement du cercle, tandis qu'une augmentation notable du pouvoir bactéricide et du pouvoir phagocytaire du sang se rend évidente.

2) À une diminution des germes du cercle correspond une augmentation considérable de schyzomycètes dans les organes et du pouvoir bactéricide, spécialement du foie et de la rate. Suivent dans l'ordre: le testicule, la thyroïde, le thymus. Le pouvoir bactéricide s'est montré nul de la part du muscle, de la peau et du rein.

3) De notables quantités d'hyperleucocitoses se trouvent dans le sang, depuis les premières heures de l'expérience, atteignant les valeurs *maxima* à la 24.ème et à la 96.ème heure de l'infection.

4) Le pouvoir agglutinant du sérum de sang est résulté nul dans toutes les expériences.

Institut de Bactériologie et d'Immunologie de la R. Université de Turin.

CIFERRI R. – **Les différentes formes de moisissure des amandes de cacao.**

On vient d'avoir étudié, au point de vue microbiologique, une série de spécimens de cacao produit à St. Domingo, commercialement dénommé « Cacao Sanchez ». L'étude en question a été bornée aux moisissures qui poussent sur le cacao même, et l'on a pris en considération cette odeur qui est dite « de moisissure ».

On peut distinguer deux différentes odeurs de moisissure: l'une, qui est, plus précisément une odeur de moisissure mélangée à une odeur terreuse, provoquée par une riche végétation superficielle d'actinomycètes et, en première ligne, d'*Actinomyces albus* Kr. emend. Waksm. et Curtis (avec l'*A. griseus* Kr. etc); l'autre, sans une odeur perceptible, ou bien sentant légèrement le champignon et le rance et étant provoquée par des moisissures.

Cette étude a été pratiquée en lavant les amandes de cacao avec de l'eau stérile, à l'aide d'un pinceau rigide et en cultivant les microrganismes se trouvant dans l'eau de lavage, sur de l'agar de prunes contenant du chlorure mercurique à l'1 : 10.000.

Le total des moisissures a été de 2300 pour les amandes de cacao sain et mélangé (fermenté et non fermenté); de 950 pour les amandes de cacao

sain et fermenté; de 3050 pour les amandes de cacao sain et non fermenté. La moyenne générale donné par 120 déterminations faites à de différentes diluitions, a été de 2100 germes pour chaque amande.

Les différentes formes de moisissures isolées ont été divisées en quatre groupes, comprenant: 1) les Mucorales; 2) les Aspergilles; 3) les Pénicilles; et 4) des moisissures n'appartenant à aucun de ces groupes. Chaque amande de cacao possède, en moyenne, 48 germes de Mucorales, 39 d'Aspergilles, 10 de Pénicilles et 3 germes appartenant à d'autres moisissures (le tout, exprimé en pourcentage).

Les Aspergilles plus fréquemment observés appartiennent aux groupes de: *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. glaucus*. L'*A. flavus* et l'*A. nidulans* sont plus rares et les Aspergilles de groupes *A. versicolor* et *A. candidus* sont beaucoup plus rares.

Parmi les Pénicilles on rencontre assez fréquemment le *Penicillium leucopus* (Pers.) Biourge (*P. glaucus* ou *P. crustaceum* Auct.); les autres souches isolées (*P. notatum*, *P. luteum*, *P. roseum* et *P. candidum*) sont bien plus rares.

La Mucoracée qui a été isolée le plus fréquemment, c'est *Rhizopus nigricans* Ehr, tandis que *Rhizopus arrhizus* Fisch, *Mucor mucedo* L. et *Mucor racemosus* Fres. sont bien moins fréquents que le précédent.

Parmi les moisissures dont on n'a pas tenu compte dans les groupes précédents, les espèces que l'on rencontre le plus fréquemment sont la *Spicaria lateritia* Cif., qui, localement, est un des saprophytes les plus repandus, et *Cephalosporium acremonium* Corda, qui ne l'est pas moins. On voit aussi assez souvent *Pullularia pullulans* (De By) Oud., *Dematium pullulans* (De Bary), *Alternaria tenuis* Nees et *Trichothecium roseum* Link.; tandis que c'est seulement dans des cas exceptionnels qu'on rencontre *Hormodendron pallidum* Oud., *Macrosporium commune* (Rabenh.) Sacc., *Catenularia fuliginea* Saito, et *Coniothecium effusum* Corda. On a constaté aussi la présence d'une nouvelle espèce du genre *Dendryphium* (*D. congestum*), ainsi que celle d'une nouvelle espèce de *Helminthosporium*, dénommée *H. cacaophilum* Cif, et différente de *H. theobromae* Durc. et de *H. theobromicolum* Cif et Frag. Enfin, on a isolé un champignon pour lequel on a dû créer un genre nouveau et une nouvelle espèce, à savoir: *Blastoconium tropicum* Cif. Ce genre présente une affinité avec *Coniothecium* et avec *Pullularia*; il produit des clamidospores terminales (conidies) phéofragmes ou phéodictes, et un micélium toruleux ou monilioïde, dont chaque membre (clamidospores intercalaires) peut se multiplier par gemmation.

Des suspensions de conidies de ces microrganismes ont été inoculées, moyennant l'aspersion, à des amandes de cacao fermenté et non fermenté, qui, ensuite, ont été placées en incubation dans la chambre humide. Les

espèces dont la pousse a été la plus abondante ont été les suivantes: *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *Rhizopus nigrocans* et *Mucor mucedo*, tandis que celle de: *Aspergillus glaucus*, *A. tamarii*, *A. flavus*, *Penicillium leucopus* et *Rhizopus arrhizus* ont poussé moins vigoureusement. Ces moisissures se développent de préférence sur le cacao non fermenté et moins abondamment sur le cacao fermenté. Par contre, on n'a pas remarqué des différences sensibles entre les amandes de cacao entières et les amandes de cacao coupées.

Naturellement, le cacao mélangé moisi est le plus riche en formes de moisissures avec une moyenne de 15 formes; après celui-ci on a le cacao sain mélangé et celui qui est sain et qui n'est pas fermenté, avec 10 formes chacun; à la fin il y a le cacao sain et fermenté, avec 9 formes seulement.

La production de moisissures du cacao.

Les amandes de cacao contiennent, en moyenne, le 19 pour cent d'humidité, avec des rebuts qui vont du 14 au 21 pour cent. Le cacao qui n'est pas fermenté renferme une quantité d'humidité plus grande que celle du cacao fermenté, c'est-à-dire, une moyenne du 19 pour cent vis-à-vis du 15 pour cent. Ces chiffres se basent sur 9 déterminations pratiquées sur 9 specimens. Naturellement le poids spécifique varie, lui-aussi, d'un *minimum* de 0,883 jusqu'à un *maximum* de 0,991. La moyenne que l'on a tirée de 40 déterminations pratiquées sur 4 échantillons, a été correspondante à 0,934. Le poids spécifique du cacao non fermenté est légèrement plus élevé que celui du cacao fermenté.

Lorsque les amandes de cacao sont plongées dans de l'eau, elles absorbent, pendant les premières 24 heures, une quantité de liquide correspondant au 15-20 pour cent de leur poids initial. Les amandes exposées à la vapeur aqueuse saturée, absorbent l'1,10% environ de leur poids initial et, au bout de cinq jours, l'absorption est de 0,56 à 2,77 pour cent; l'absorption quotidienne a varié de 0 jusqu'à 2,38 pour cent. Les amandes de cacao non fermenté absorbent une quantité de vapeur aqueuse plus grande que celle qui est absorbée par les amandes de cacao fermenté, c'est-à-dire l'1,57 pour cent vis-à-vis du 0,56 pour cent.

Le resultat de la dessication faite moyennant des températures qui varient de 40 à 100 degrés C., nous a montré que, pour ce qui se rapporte au cacao fermenté, l'absorption de la vapeur aqueuse est inversement proportionnelle à la température du desséchement même. Le comportement du cacao non fermenté est bien plus irrégulier. En effet: l'absorption de la part du cacao fermenté, desséché à 40° C, est de l'1,10 pour cent; tandis que l'absorption de la part du cacao desséché à 80°, 90° et 100° C est, respectivement, du 0,24, 0,43 et 0,44 pour cent. Il s'ensuit que la

température la plus appropriée pour la dessication est celle de 80 degrés C.

La perte de l'humidité des amandes de cacao exposées au soleil pendant 11 heures est autant irrégulière que l'absorption de la vapeur aqueuse. En général, elle atteint son *maximum* pendant les premières heures, en décroissant dans les heures successives, jusqu'à devenir nulle entre la sixième et la septième heure. La perte de poids a varié du 3,66 à l'1,31 pour cent, avec une moyenne de 2,03 pour cent. La dessication est *maxima* dans le cacao non fermenté (2,77 pour cent) et *minima* dans celui qui n'est pas fermenté (1,78 pour cent).

La moyenne du poids des specimens de cacao, fermenté et non fermenté, qui ont été enregistrées pendant 100 jours, n'est apparemment pas en relation avec la moyenne quotidienne de l'humidité relative.

L'enregistrement des variations en poids d'un specimen de cacao fermenté et d'un spécimen de cacao non fermenté, — enregistrement qui a été fait pendant 24 heures, toutes les 15 minutes — a montré que le cacao fermenté et celui non fermenté enregistraient un mouvement d'humidité, négatif et positif, presqu'égal (respectivement du 2,88 et du 2,72 pour cent); mais le cacao fermenté avait perdu le 0,68 pour cent en poids, et le cacao non fermenté l'1,38 pour cent.

Ces déterminations préliminaires ont permis d'avérer le point critique de l'humidité, en employant des amandes de cacao fermenté et non fermenté, arrosées moyennant un mélange de conidies des moisissures plus fréquemment isolées et renfermées dans des récipients contenant des solutions salines, ayant une tension donnée de vapeur, à la température de l'expérience. On a pu constater, de la sorte, qu'une humidité relative en raison du 79 pour cent, permet aux moisissures ensemencées de se développer au bout de 16 jours d'incubation, tandis que le *minimum* fut obtenu au bout de 8 jours après l'ensemencement et à la présence du 90 pour cent d'humidité. Le cacao non fermenté moisit après 10 jours, en présence du 79 pour cent d'humidité, tandis qu'en présence du 100 pour cent d'humidité il moisit au bout de 6 jours *minimum*.

Les Levains du cacao de St. Domingo.

Après avoir pratiqué une série d'isolements des microrganismes du cacao en fermentation, moyennant des specimens prélevés à des époques différentes et en différentes localités, et des échantillons fermentés et non fermentés mais desséchés, on a été à même de cultiver différents levains sporigènes et asporigènes qui ont été étudiés au point de vue systématique.

Les espèces ou varietés qui normalement se trouvent dans le cacao en fermentation sont les suivantes: 1) *Saccharomyces ellipsoideus* Hans. var.

tropicus Lil. Toal; 2) *S. ellipsoideus* var. *domingensis* Cif.; 3) *Endomyces anomalus* (Hans) Zender; 4) *Schizosaccharomyces Bussi* Lil. Toal et Henneb; 5) *Kloeckeria cacaoicola* Cif.; 5) *Eutorulopsis theobromae* (Preyer) Cif. Et encore; 7) *Torulopsis Liliefeld-Toalii* Cif.; et 8) *Kloeckeria domingensis* Cif. qui sont moins fréquentes mais non pas exceptionnelles. Par contre, c'est seulement par accident que l'on constate dans le cacao fermentant les formes suivantes: 9) *Torulopsis Hamel-Smithii* Cif.; 10) *Schizoblastosporion domingensis* Cif.; 11) *Torulopsis aurantiaca* (Saito) Cif. et Red.; 12) *Torulopsis mucilaginosa* (Joerg.) Cif. et Red; 13) *Mycotorula ramosa* (Saito) Cif. var. *dominicana* Cir.; 14) *Geotrichum cerebrinum* Cif.; 15) *Geotrichum byssinum* Cif.; 16) *Geotrichum byssinum* var. *rigidum* Cif.

De toutes les formes susmentionnées, celles qui correspondent aux Nos I, 3, 4, 6, aussi bien que la forme sporigène du *Schizosaccharomyces Bussei* (*Schizotorulopsis Bussie* Cif.), sont inter-tropicales et elles ont été trouvées par M. Lilienfeld-Toal dans le cacao fermentant provenant de différentes régions du globe. Les formes 11 et 12 se trouvent habituellement à St. Domingo et en d'autres pays non tropicaux, mais on ne les a jamais constatées dans le cacao fermentant. Les formes Nos. 2, 5, 7, 8, 9, 10, 13, 14, 15 et 16 n'ont été apparemment retrouvées qu'à St. Domingo. Certains levains qui ont été décrits par M. Lilienfeld-Toal, et précisément: *Saccharomyces ellipsoideus* Hans. var. *brasiliensis* Cif. (« Weinhefe B »); *Schizoblastosporion santhomensis* Cif. (« Hefe R »); *Torulopsis neotroca* Cif. (« Kahmhefe B »); *Saccharomyces theobromae-fermentans* Cif. (« Saccharomyces M ») ont été isolés des amandes de cacao de différents pays, mais on ne les a pas trouvés à St. Domingo.

Les formes dont on constate plus fréquemment la présence au début de la fermentation sont: *Endomyces anomalus; Kloeckeria cacaoicola; Eutorulopsis theobromae*; *Kloeckeria domingensis.* On observe plus rarement: *Saccharomyces ellipsoideus* var. *tropicus*; *Saccharomyces ellipsoideus* var. *domingensis; Torulopsis Lilienfeld-Toalii; Torulopsis Hamel-Smithii;* et plus rarement encore: *Schizosaccharomyces Bussei* et *Schizoblastosporion domingensis.*

Les formes que l'on rencontre lorsque le cacao est dans le fort de sa fermentation sont: *Saccharomyces ellipsoideus* var. *tropicua* et *Eutorulopsis theobromae* qui sont, de beaucoup plus, les plus abondantes. Elles sont suivies par: *Saccharomyces ellipsoideus* var. *domingensis; Schizosaccharomyces Bussei* et *Tourlopsis Lilienfeld-Toalii* qui sont peu moins abondantes de formes précédentes. *Endomyces anomalus* et *Kloeckeria cacaoicola* sont plus rares, et enfin *Kloeckeria domingensis* est très rare.

Les formes qui prédominent à la fin de la fermentation sont: *Eutorulopsis theobromae* et *Torulopsis Lilienfeld-Toalii.* On rencontre un peu

moins souvent *Schizosaccharomyces Bussei* et *Saccharomyces ellipsoideus* dans les deux variétés *tropicus* et *domingensis*.

Bien plus rare c'est l'*Endomyces anomalus* et c'est seulement par accident que l'on rencontre: *Klockeria cacaoicola*, *Torulopsis aurantiaca*, *Mycotorula ramosa*, var. *dominicana*, *Geotrichum cerebrinum*, *Geotrichum flexuosum* et *Geotrichum byssinum*, var. *rigidum*.

Les deux variétés du *Saccharomyces ellipsoideus* et l'*Eutorulopsis theobromae* sont relativement abondantes dans les amandes fermentées et desséchées, tandis que l'*Endomyces anomalus* et le *Schizosaccharomyces Bussei* y sont plus rares. Enfin, on peut constatar occasionnellement la présence de *Torulopsis Lilienfeld-Toalii, de Torulopsis mucilaginosa, de Geotrichum cerebrinum, de Geotrichum flexuosum et de Geotrichum byssinum.*

Le travail complet touchant aux moisissures du cacao, aux levains du cacao et à d'autres arguments se rapportant au même sujet, paraît actuellement dans le « *Journal of the Department of Agricolture of Porto Rico* ».

BARBONI E. – **L'anaplasmose chez les ovines de l'Ombrie.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Dans le territoire de Collepepe, dans la vallée moyenne du Tibre et précisément dans une localité qui n'est pas très éloignée de ce fleuve, chez un troupeau qui, pour la surveillance sanitaire, est confié aux soins du docteur Falini, il se vérifiaient sporadiquement, au courant de la saison chaude, des cas de mort dus à une maladie qu'il n'hésita pas à attribuer à un agent de nature infectieuse à cause de son quadre clinique, du caractère enzootique, et des lésions.

Il est question d'une forme morbide, ayant un cours plutôt bref, de deux ou trois semaines, qui est caractérisée du côté clinique par des symptomes d'une grave anémie aiguë avec une forte fièvre, ictère et défaut d'hémoglobinurie, et, du côté anatomique, par une infiltration séreuse, très prononcée du connectif lâche — dont la couleur, tout comme pour les téguments et les muqueuses, est jaune claire — par une tumeur moyenne à la rate, par des faits de dégénération des organes parenchymateux, où il se produisent aussi de petites hémorragies, et enfin par un légère tumeur et par un oedème des ganglions lymphatiques.

Dans le but de préciser la nature de cette maladie, le docteur Falini s'adressa à M.le prof. De Gasperi en lui communiquant ce qu'il avait eu l'occasion d'observer.

Après avoir décidé ce qu'il fallait faire, il porta plusieurs fois à notre

laboratoire des frottis de sang préparés d'après des animaux encore en vie, fébricitants; ces frottis avaient été faits lorsque la température des animaux mêmes, très haute, semblait indiquer l'acmé de l'accès: en outre il nous porta aussi les viscères de ces animaux, viscères qu'il avait prélevé très peu de temps, même pas une heure, après la mort.

Ayant soigneusement examiné ces viscères, anatomiquement et pathologiquement, j'en fixais de petits morceaux dans de l'alcool et dans du liquide de Foà, pour en faire ensuite des préparés afin d'étudier, du côté histologique, les lesions qui s'y étaient manifestées; en outre, après avoir pris connaissance des résultats des examens préliminaires faits sur les premiers cas, j'apprêtais des préparés frais et des frottis d'après le sang du coeur et la pulpe splénique: ces préparés, tout comme ceux qui provenaient du sang périphérique, étaient de suite colorés, d'après la méthode May-Grünvald-Giemsa.

J'ai continué de cette façon, méthodiquement, parce que M.le prof. De Gasperi, en traitant ce matériel avec différentes méthodes de coloration, comme le but des recherches l'exigeait, avait déjà observé, dès le début, et d'une façon très nette, dans un grand nombre de globules rouges, la présence de formations ayant l'aspect de cocci, ou, mais moins nombreuses, ayant la forme d'un point, et qui étaient fortement et uniformement colorées par les couleurs basiques, sans trace de protoplasma; elles étaient situées généralement près de la périphérie des hématies ou sur le bord, de façon à le dépasser, tandis qu'en d'autres cas elles étaient ou centre, ou bien libres dans le protoplasma- Ces formations ont donc un siège défini et des caractères morphologiques et tinctoriaux parfaitement égaux à ceux de « *peripheral coccus like bodies* » ou « *marginal points* » de Theiler; cet A. fut le premier à en reconnaître l'action pathogène dans la « *Galziekte* » autrement dite « *Gallsikness* » et à les individuer comme un agent particulier de nature protozoaire; ils les nomma *Anaplasma* et indiqua la maladie par le nom d'*Anaplasmose*; en outre ces formations, d'après M.le prof. De Gasperi, devaient donc avoir, dans ce cas, des caractères étiologiques bien définis.

Au cours de nouvelles recherches faites sur cette maladie, recherches dont me chargea M.le prof. De Gasperi, j'ai, en effet, toujours observé dans le sang périphérique et dans celui de la rate la présence de ces formations dans les globules rouges ou bien, en quelques cas, elles étaient même libres.

Dans les préparés récents, les formations évidentes avaient la forme d'un petit corps rond, isolé ou bien lié à un autre, doué d'un certain pouvoir de réfraction, et disposé généralement, dans les érythrocytes, à la périphérie. J'ai aussi constaté que les couples étaient quelquesfois doués d'un mouvement rotatoire très lent.

Dans les frottis colorés selon la méthode May-Grünvald-Giemsa, j'ai

remarqué que ces formations étaient rondes ou ovoïdales, avec un bord nettement marqué, ayant une coloration rouge-violette uniforme et intense, et dont les dimensions étaient généralement de 0,6-0,8 micron à peu près, mais elles pouvaient être aussi beaucoup plus petites ou bien de dimensions supérieures.

Pour la plus grande partie des cas elles étaient seules dans le même érythrocyte ou bien par couples, tangentes ou écartées de très peu, dont l'une un peu plus petite: en général elles étaient disposées vers la périphérie ou sur le bord, en le dépassant de façon à ce qu'elles semblaient en sortir et elles y étaient entourées par un petit halo clair plutôt pâle. Mais j'ai aussi remarqué qu'assez souvent elles étaient deux dans la même hématie, marginales et diamétralement opposées: plus rarement j'en ai vu trois dont deux vers la périphérie et la troisième presqu'au centre. Très rarement j'ai trouvé des formations libres.

Les corpuscules rouges qui ne présentaient que ces formations et toujours les mêmes, variaient du 40 au 60 %, dans les différents examens du sang périphérique. En examinant les parenchymes spléniques, après la mort des animaux, j'ai aussi constaté que la quantité moyenne des corpuscules rouges qui contenaient les formations susdites, et qui, tout comme ceux provenant du sang périphérique, présentaient les altérations des anémies graves, était du 60 pour cent.

Les globules rouges étaient devenus pyriformes, à bogue de châtaigne, ou bien à forme ovoïdale, avec une regonflement hydropique et un dégénération à cavité, d'une couleur rose pâle, légèrement basophiles ou polychromatiques: ces observations m'ont fait penser à l'existance de faits d'anisocytose, de poïkilocytose, de polychromasie, de basophilie d'une anémie grave, en somme.

Ensuite, étant donné le grand nombre de corpuscules rouges envahis par ces formations et à cause de la morphologie et de la couleur très prononcée, en laissant de côté toute différentiation intérieure, des dimensions presque constantes et de la position généralement marginale dans les corpuscules rouges mêmes des formations en question, et enfin à cause de l'absence de tout phénomène dû à des pyroplasmes, il faut conclure que l'infection s'étant manifestée chez nous est provoquée par l'*Anoplasma*, qui doit être identifié avec l'*Anaplasma marginale ovis*.

Cette conclusion est d'autant plus fondée que Du Toit, par des recherches expérimentales récentes (1928) et rigoureuses, a éliminé définitivement tous les doutes et il a mis un terme à de longues discussions, en démontrant la nature parasitaire de l'*Anaplasma* en général.

Chez la race ovine de Collepepe la maladie pure, c'est-à-dire non associée a la Pyroplasmose ou à la Theileriose comme il arrive générale-

ment pour l'Anaplasmose dans toute l'Afrique, se présente, comme il a été dit, sous une forme grave, de courte durée, souvent mortelle.

Après une période d'incubation, que l'on n'a pu déterminer mais que l'on a raison de croire assez longue, car la maladie se manifeste sporadiquement avec peu de cas chaque fois, une fièvre très haute survient, le pouls et la respiration deviennent fréquents et accélérés, les tons cardiaques sont renforcés, il y a anorexie et l'allure des animaux est incertaine et vacillante.

L'accès qui a commencé de cette façon continue au cours des jours suivants et la température baisse vers le matin d'une façon considérable et irrégulière et subit même des intermittences, tandis qu'il se manifestent les signes d'une anémie intense; les muqueuses et la peau deviennent très pâles et en peu de temps elles prennent la blancheur de la porcelaine, pour se couvrir aussitôt d'une nuance jaunâtre qui devient ensuite toujours plus prononcée, au point d'avoir les caractères d'une véritable coloration subictérique pendant la deuxième semaine de maladie, séparée de l'apparition d'ecchymose, de pétéchies et d'hémoglobinurie.

Pendant cette période les animaux souffrent aussi de troubles à l'appareil digérent à cause de l'atonie du rumen qui se manifeste pour tous les cas, d'indigestion du feuillet, de catarrhe intestinal avec présence de flacons muqueux dans les excréments, et ils maigrissent progressivement en devenant très faibles et succombant vers la fin de la deuxièmè semaine ou pendant la troisième, lorsque la fièvre est à son maximum. L'accès passé, quelques animaux se remettent lentement après une longue convalescence.

Ayant pratiqué l'autopsie de quelques uns des sujets morts et présentants les symptômes, précédemment décrits, d'une anémie aiguë, j'ai observé que tous présentaient le mêmes lésions, plus ou moins prononcées: le sang a une couleur un peu plus pâle et ne coagule pas complètement, il se produit une infiltration séreuse du connectif sous-cutané qui est légèrement jaune comme les muqueuses explorables. Les ganglions lymphatiques sont légèrement tuméfiés et oedémateux. Les muscles du squelette sont considérablement atrophiés et ont une couleur trouble, gris-rose. Le poumon, légèrement oedémateux a une coloration sub-ictérique diffuse et peu prononcée. Le coeur est pâle, un peu trouble, et présente une légère infiltration séreuse et quelques ecchymoses sous-épicardiaques et sous-endocardiaques, disséminées. La rate a augmenté légèrement, de volume et aussi la pulpe qui se présente juteuse, rouge foncée. Le foie est congestionné, légèrement tuméfié et oedemateux, rougeâtre avec des nuances grises, trouble, friable et à la surface de tranchement il est opaque et son parenchyme a perdu son aspect normal et sa configuration. Il se présentait aussi une légère inflammation catarrhale

de la vésicule biliaire contenant de la bile pleïochromique, une tuméfaction trouble des reins facilement décapsulables, rougeâtres à cause d'une légère hyperémie diffuse, avec de petites hémorragies répandues sur le cortex. La muqueuse des estomacs présentait une hyperémie diffuse et une masse plutôt sèche obstruait le feuillet. La moelle des os présentait aussi une hyperémie légère et diffuse, sa couleur était gris-rose plutôt pâle, sa consistance molle.

L'examen microscopique des préparés histologiques des petits morceaux de quelques uns des viscères, colorés par la méthode ordinaire à l'hématoxiline et à l'eosine, avec le bleu polychrome de *Unna*, avec la solution de *Giemsa*, etc., a permis de remarquer les faits suivants.

Dans le coeur il se présente, un éloignement plus ou moins marqué, des faisceau des fibro-cellules musculaires, et en certains points il se forment des espaces où l'on observe de rares éléments ronds, rangès en une seule file, ayant un noyau polymorphe et un anneau de cytoplasma assez large, alternés à d'autres éléments plus petits avec un noyau rond, coloré uniformément par l'hématoxiline, et un bord de protoplasma rose plutôt mince: on reconnut que les premiers étaient des polymorphonucléés neutrophiles et les seconds des lymphocytes.

On peut aussi observer qu'il y a un petit nombre de ces éléments ronds, toujours rangés l'un derrière l'autre, aussi dans certains points près de l'endocarde qui, à leur niveau, est plus épais à cause d'une infiltration séreuse. De ci et de là, il y a de petits vases sous-endocardiaques qui sont dilatés, remplis de globules rouges, qui se sont aussi groupés autour de ceux-ci ou bien en contact immédiat avec l'endocarde.

Les faits que l'on a écrits ne démontrent qu'un léger oedème et de petites hémorragies.

Les fibrocellules musculaires ne semblent pas présenter, pour de longs espaces, aucune altération dans leur structure et elles conservent leur aspect et leur forme sans altérations, aver les stries longitudinales et transversales et les noyeaux inaltérés, tandis que chez d'autres on n'observe que les stries transversales qui, quelquefois, sont espacées. Il y a des points où les stries ont complètement disparu et les fibrocellules sont transformées en masses troubles et granuleuses, où il se présentent des cavités de dimensions variables. Mais on en observe aussi souvent de celles qui ont formé, sur une grande étendue, des amas ou des blocs homogènes, à l'aspect vitreux, ayant une couleur rose à cause de l'éosine, et avec des noyaux pâles, ou bien les restes de ces derniers. Ces lésions sont évidemment celles d'une tuméfation trouble et d'une dégénération vacuolaire et hyaline.

Dans la rate il se présente une agglomération diffuse et épaisse, formée par des corpuscules rouges en nécrose, avec les signes evidents d'une hémorragie sur des vastes étendues de la pulpe et sous la capsule. Les

corpuscules rouges ayant perdu toute l'hémoglobine, on n'en observe plus que les ombres, tandis qu'il se sont formés dans tout l'organe des amas de pigments que l'hémoglobine même a produit: ce sont des masses amorphes d'hématine, des formations irrégulières de cristaux d'hématoïdine, des granulations de hémosidérine.

Les cellules de la pulpe, dans certaines régions, sont assez espacées, car un grand nombre en a été détruit: on remarque souvent, disséminées parmi les autres, des cellules globulifères et pigmentifères. Ailleurs, près des follicules, où les premières sont assez nombreuses, on voit encore quelque cellule pigmentifère à côté de rares « mastzellen » (*Unna*) distribuées ci et là, de petits nids myéloïdes, des myéloblastes, des myélocytes et des érythroblastes, qui sont l'expression d'une hématopoïèse compensatoire.

La congestion très prononcée et les foyers hémorragiques très vastes de l'organe, provoquent la destruction nécrotique par compression des follicules lymphatiques. Il est, en effet, impossible d'en voir de ceux qui ont conservé leur aspect, leur forme, leur volume et leur structure normale, mais il n'y en a plus que les restes formés par un petit nombre de lymphocytes: ce n'est qu'à une certaine distance de ces foyers qu'il y en a quelques uns, plus ou moins atrophiés, et dont les éléments sont plus ou moins espacés. En outre on observe aussi une atrophie des trabécoles et du réticulum fibrocytaire.

Dans le foie il n'est plus possible d'observer, presque nulle part, une configuration normal du parenchyme, et ce n'est que rarement et avec une grande difficulté que l'on peut, en certains points, identifier la configuration de l'acin. Dans presque tout l'organe les lobules sont indistincts et semblent être en voie de fusion, les rangées des cellules sont plus ou moins désorientées et divergentes, irregulièrement disposées et interrompues, avec des veines centro-lobulaires ectasiques. Plusieurs cellules sont grossies, globulaires, à bords indistincts, troubles, remplies de granulations, et présentent souvent des cavités évidentes et un noyau que l'on distingue avec peine; leur couleur est bleu pâle ou bien trop indistincte pour être définie. D'autres sont plus petites et enfin il y en a de celles qui ont été détruites. Dans les espaces entre ces rangées il y a quelque fois des éléments ronds, leucocytes polynucléaires ou lymphocytes. L'organe était évidemment atteint de tuméfaction trouble et d'oedème.

La structure du rein semble n'avoir subi aucune altération. De ci et de la, dans le cortex, les capillaires sont ectasiques, remplis de globules rouges qui, quelquesfois, sont sortis et se sont groupés aux alentours ou bien près de la capsule d'un glomérule et ont ainsi formé de petites hémorragies. On observe aussi qu'en certains endroits les petits canaux se sont gonflés dans leur partie principale et sont plutôt dilatés, avec les

épithéliums grossis, granuleux, d'une couleur jaune claire (coloration ictérique), ou bien ils se présentent dans le lumen, réunis en une masse qui les remplit presque totalement (cylindres). À d'autres endroits les épithéliums des petits canaux repliés ou bien droits, ne sont que légèrement troubles avec des granulations inermes, quelque goutte hyaline et le bord effiloché. On n'a observé aucun autre fait important. Le rein, lui-même, semble donc atteint légèrement et en des points isolés, par la tuméfaction trouble.

***

Ce fut Bruce qui, en 1910, identifia, le premier, dans l'Uganda l'anaplasmose, chez la race ovine, comme une entité nosologique bien définie; ensuite Bevan et Trautmann l'observérent en 1912 en Rhodésie, Schellhase dans l'Afrique Occidentale ex-allemande, en 1912 et en 1914, Di Domizio en Erithrée en 1919, Lestoquard en Algérie en 1924: la même année De Koch et Quinland l'observèrent dans l'Afrique du Sud, Lestoquard à nouveau, en 1926, en Algérie et Carpano en Egypte, en 1927 et en 1929.

Avant ces observations elle n'avait jamais été décrite en Italie.

BIBLIOGRAPHIE

Bevan, The veterinary Journal, juillet 1912, pag. 400.
Bruce, Comm. Roy. Soc., 1910, Bd. 10, pag. 86-103.
Carpano, Annales de Parasitologie, juillet 1930, T. VII, n. 3-4.
De Koch et *Quinland,* Bull. Soc. Path. Exot., 1924, T. XVII, pag. 651.
Di Domizio, Clinica Veterinaria, 1919, n. 7-8-9-10.
Donatien et *Lestoquard,* Rev. Vét. et Journ. de Méd. Vét. et de Z., 1930, T. LXXXII.
Du Toit, Union of South Africa, Department of Agriculture, 13th and 14th. « Reports of the Director of Veterinary Education and Research », Part I, october 1928.
Lestoquard, Bull. Soc. Path. Exot., 1924, T. XVII, pag. 784.
Schellhase, Berlin. Tierärztl. Woch., 1912, Bd. 28, pag. 511.
— Zschr. f. Infek. Kr. d. Haustiere, 1914, Bd. 15, pag. 93.
Trautmann, Berlin. Tierärztl. Woch., 1913, Bd. 29, pag. 593.
Velu, Mémoires de la Soc. de Sciences Nat. du Maroc, 1922, T. II.
Schilling u. *Meyer,* « Handbuch der pathogenen Mikrorganismen », Lieferung 9, Bd. VIII.

Institut de Pathologie Générale et d'Anatomie Pathologique Vétérinaire, Perugia.

PATANÈ C. – **Observations sur l'action désintoxicante du formol sur le bacille du typhus.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

La direction générale de la Santé Militaire, en suivant avec grande attention les études les plus récentes sur les essais de désintoxication des vaccins bactériens par la méthode de Ramon, m'avait chargé, à la fin de l'année 1929, de m'occuper éxperimentalement de cette question au sujet du vaccin du typhus.

Le programme établi pour ce travail avait expressément comme but:

1) de contrôler les observations expérimentales connues, se rapportant directement à ce sujet;

2) d'étudier des modifications de la technique classique permettant, éventuellement, d'arriver à la préparation d'un anavaccin encore moins toxique;

3) de rechercher si, et en quelle mesure, une diminution de toxicité de l'anavaccin pouvait réellement être produite par une modification de l'endotoxine;

4) de comparer expérimentalement le pouvoir immunisant du vaccin formolé et du vaccin conservé stérilement.

J'exposerai brièvement dans cette communication les recherches faites jusqu'à aujourd'hui et les résultats obtenus.

Notes fondamentales techniques. — Je me suis constamment servi, comme point de départ, de cultures sur gélose de 48 heures, sur plaques de Kolle, d'une souche de typhus de la collection de l'Institut. L'émulsion des germes, obtenue moyennant la solution physiologique était immédiatement dosée diaphanométriquement: ensuite, sauf quelques variantes spéciales exceptionnelles, on la portait au degré de dilution voulu, et on la divisait de suite en deux parties, dont l'une était chauffée pendant une heure à 60° et à l'autre on ajoutait, en général, le 0,4% de bonne formaline du commerce.

Dès que l'épreuve de stérilité était reconnue satisfaisante on introduisait les deux portions, avec tous les soins nécessaires, dans des fioles. Ces fioles, fermées à la lampe, étaient laissées pendant 30 jours dans un thermostate à 37°, en les agitant de temps en temps: ensuite elles étaient conservées dans une glacière.

Tous les essais de toxicité ont été faits sur des cobayes du poids de 250-300 gr., toujours inoculés par voie endopéritonéale.

Nécessité d'éliminer régulièrement le formol des préparations à inoculer. — Ayant l'intention de me servir de préparations bactériennes, ou bien d'autres préparations analogues, formalinisées au 0,4% et à l'1%, j'ai commencé par expérimenter sur des cobayes, et toujours par voie péritonéale, la dose mortelle *minima* (d. m. m.) de la formaline à ma disposition, diluée dans les proportions susdites avec de la solution physiologique. J'ai trouvé:

pour la dilution au 0,4%:

d. m. m. cc. 4 = formaline cc. 0,016;

pour la dilution à l'1,0%:

d. m. m. cc. 1,5 = formaline cc. 0,015.

Il ne faudrait cependant pas croire que les limites de la zone dont on disposait pour la préparation des émulsions bactériennes formolées puissent être conformées sans autre, aux données ci-dessus. Et cela par le fait que la composition de ces émulsions aurait généralement dû avoir une constitution bien plus complexe, produite, avant tout, par les différentes substances organiques extractives qui seraient passées du terrain de culture et capables, en partie, comme on le sait, de réduire le degré original de toxicité du formol ajouté.

C'est pourquoi, afin d'avoir un point de départ bien déterminé, en rapport le plus intime possible avec le matériel dont je disposais, j'ai préparé des dilutions à ¼ de bouillon ordinaire, et j'y ai ajouté le 0,4 et l'1% de formaline. Le bouillon, naturellement, était le même que celui employé pour la préparation du terrain au gélose dont je me servais couramment, et des essais comparatifs colorimétriques préliminaires m'avaient permis d'établir que précisément dans la proportion obtenue en le diluant à ¼, il venait à se trouver une quantité de substances biurétiques — prises comme base — presqu'égale à celle contenue dans le liquide de décantation de ma première série d'émulsions formolées à expérimenter, dosée à 15 milliards de germes par c. c.

Cependant, *ad abundantiam*, j'ai voulu en même temps mettre à l'essai des dilutions à ½ de ce même bouillon, formalinisés de la même façon.

Après le séjour prescrit au thermostate, j'ai pratiqué les inoculations. Les résultats, pour les deux dilutions indiquées furent les suivants:

bouillon formalinisé au 0,4%:

d. m. m. cc. 11 = formaline cc. 0,044;

bouillon formalinisé au 1,0%:

d. m. m. cc. 4,5 = formaline cc. 0,042.

Ayant ainsi déterminé « grosso modo » les limites quantitatives fondamentales des manifestations éclatantes de toxicité de la formaline,

dans les conditions les plus proches à mes expériences définitives, il restait à fixer jusqu'à quel point, en se servant des préparations d'anavaccin ou de celles semblables, il serait possible de s'approcher aux doses limites ainsi fixées, sans que la quantité de formol administrée ne vienne à troubler d'aucune façon l'évaluation du degré effectif de toxicité spécifique de ces préparations.

Voici ce que j'ai obtenu à ce sujet, d'après le premier groupe de mes expériences (1ère série d'émulsions, 15 milliards de germes par c. c.):

émulsion simple:

d. m. m. 15 milliards de germes;

emulsion formalinisée 0,4%:

d. m. m. 40 milliards de germes = formaline c.c. 0,011;

émulsion formalinisée 1,0%:

d. m. m. 25 milliards de germes = formaline cc. 0,015.

Ces données prouvent, sans doute possible, que le résultat pratique de l'expérience a été profondément influencé par l'introduction du formol sous la forme de facteur sûrement aggravant. Ceci ressortait le plus évidemment par l'essai pratiqué moyennant l'émulsion additionnée de l'1% de formaline, bien que cette substance ne faisse partie, dans l'administration correspondante, qu'en quantité égale à ⅓ environ de sa dose mortelle.

Technique adoptée pour éliminer le formol. — Sans tenir compte d'autres conditions contraires, de simples raisons d'uniformité ont fait écarter, « à priori », tout procédé mécanique, vu que pour un des groupes d'expériences il était indispensable d'employer des preparations physiquement homogènes (lysés de germes, etc.).

Pour obtenir le but voulu, il ne restait donc qu'à agir chimiquement sur le formol ou bien à l'éliminer par distillation. Après un grand nombre d'essais il m'a semblé bon de m'orienter vers un procédé mixte, après en avoir expérimenté à plusieurs reprises — en l'appliquant à des émulsions non formolées de bacilles de typhus — l'indifférence absolue vers le degré original de toxicité de ces émulsions.

La technique dont on s'est servi consiste surtout à ajouter à la préparation qu'on emploie pour déformoler, une quantité d'ammoniaque double de celle nécessaire à transformer le formol présent, en examéthylentétramine. Après avoir laissé les substances en contact pendant 38 heures à la température ambiante, on distille au vide, au bain-marie, à 45° jusqu'à éliminer toute l'ammoniaque libre: on reporte ensuite le résidu au volume primitif.

Résultat utile de la déformolation. — Il faut, avant tout, préciser que le mot « déformolation » n'a, dans notre cas, qu'un sens purement conventionnel, car en suivant le procedé qui a été décrit il restent toujours des traces de formol dans le résidu de la distillation. Mais on peut, pratiquement, ne pas en tenir compte aux fins des expériences en question sur les animaux, comme j'ai pu le constater par quelques recherches « ad hoc » faites avec du bouillon formalinisé au 2%; ceci m'a aussi été confirmé ensuite, par l'inoculation des différentes préparation bactériennes formolées qui font l'objet de ces études.

Il suffit de citer ici les données suivantes, qui se rapportent à la même 1ère série d'émulsions de bacilles typhiques dont il a été parlé plus haut, pour se rendre compte de l'importance de la contribution que la déformolation a apporté à la recherche du degré effectif de désintoxication atteint par l'anavaccin:

émulsion simple:
d. m. m. 15 milliards de germes;
émulsion formalinisée 0,4%:
d. m. m. 45 milliards; déformolée 50 milliards;
émulsion formalinisée 1,0%:
d. m. m. 25 milliards; déformolée 50 milliards.

Limite de l'action désintoxicante du formol par rapport aux bacilles du typhus (1). — Avant de commencer le groupe d'expériences décisives sur cet argument, il m'a semblé indispensable de fixer une question préjudicielle au sujet du titre *maximum* de densité microbienne des émulsions, auquel il était nécessaire d'arriver pour avoir la certitude « a priori » que la petite quantité de formol ajoutée à ces émulsion avait effectivement pu développer à fond son action désintoxicante.

Voici le résultat des essais faits à ce sujet:

emulsion mère tuée par la chaleur:
d. m. m. 15 milliards de germes formalinisées au 0,4%:
1) 7,5 milliards de germes par cc.:
d. m. m. 50 milliards;
2) 15 milliards de germes par cc.:
d. m. m. 50 milliards;

---

(1) Tous les titrages de toxicité que l'on citera dorénavant, regardant des préparations auxquelles on a ajouté de la formaline, doivent être considérés faits avec du matériel préalablement déformolé.

3) 30 milliards de germes par cc.:
d. m. m. 45-50 milliards;

4) 45 milliards de germes par cc.:
d. m. m. 40-45 milliards.

En me basant sur ces résultats, j'ai décidé de me servir constamment des émulsions contenant 15 milliards de germes par cc., pour l'étude définitif de l'action désintoxicante du formol, même si la quantité de formol employée devait être supérieure à la mesure classique du 0,4%. Les expériences faites à ce sujet peuvent être résumées comme il suit:

a) La d. m. m. des germes de la souche de typhus choisie, tués en les chauffant pendant une heure à 60° et gardés, ensuite pendant un mois à 37° — pour que les conditions expérimentales fussent uniformes — a été régulièrement reconnue de 15 milliards (la mort avec 10 milliards a été très rare). Cette pèriode de séjour dans un thermostate ne modifie d'aucune façon le dégré de toxicité de ces émulsions, qui, en effet, est égal à celui des parties correspondantes conservées dans les glacières dès le premier moment.

b) La d. m. m. des germes des émulsions analogues formalinisées au 0,4% a été, régulièrement de 45-50 milliards (les cas de mort avec 40 milliards furent très rares).

c) Les émulsions formalinisées à l'1% ont fourni des résultats identiques au précédents; pour cette raison on n'a pas cru nécessaire de faire des expériences avec des pourcentages supérieurs de formaline.

d) L'artifice de soumettre les germes frais à un lavage avec de la solution physiologique avant de s'en servir pour préparer les émulsions définitives, n'a aucun effet sensible utile. Cet essai a été fait dans le but d'éliminer tout doute possible que l'action du formol puisse, d'aucune façon, épargner les germes mêmes par la présence dans le terrain primitif des substances organiques extractives, provenant du terrain de culture, dont on a parlé plus haut. J'ai obtenu, en effet, les résultats suivants:

émulsion lavée, tuée par la chaleur:
d. m. m. 20 milliards de germes;

émulsion lavée, formalinisée 0,4%:
d. m. m. 60 milliards de germes.

On peut ainsi déduire, d'après les recherches qui précèdent, que l'addition de formol aux émulsions de bacilles typhiques — dans une concentration adaptée — réussit à coup sûr, même dans la mesure du 0,4%, à baisser d'⅓ la toxicité originale: il ne semble cependant pas que, même en variant cette méthode, l'on puisse obtenir une réduction sensiblement plus forte.

Dans une étude sur cet argument (1) Pfeiffer est arrivé aux mêmes conclusions, pour ce qui regarde les émulsions formalinisées au 0,4 %.

Mais lorsque les germes ont été, entièrement ou en partie, soustraits à l'action du formol, les modifications auxquelles ces germes formolés ont été soumis — et qui se manifestent par les effets utiles qui ont été décrits — sont-elles susceptibles, avec le temps, d'un degré quelconque de réversion?

L'intêret de cette question saute aux yeux, si l'on considère que le moindre doute sur la possibilité d'une réversion quelconque du pouvoir toxique, obligerait formellement dans de telles conditions à ne pas introduire dans l'emploi pratique des anavaccins de ce genre, ayant un titre de formol sensiblement plus bas que celui original, ou bien, ce qui est encore pire, presque complètement déformolés.

Les observations que j'ai pu faire à ce sujet me permettent de conclure que les modifications énoncées peuvent être pratiquement considérées comme définitives. En reportant, en effet, dans de la simple solution physiologique, les bacilles du typhus provenants d'une émulsion formalinisée au 0,4 %, le titre de toxicité établi sur le moment, n'a subi aucune variation avec le temps (jusqu'au 12ème mois inclus) excepté dans le sens d'une ultérieure réduction.

Action du formol sur l'endotoxine typhique. — Dans son étude, qui a déjà été citée, Pfeiffer avait émis l'hypothèse que la diminution de toxicité démontrée certains anavaccins préparés à l'aide des germes producteurs d'anatoxine, pouvait probablement être attribuée à un retard dans l'absorption de la substance des corps bactériens endurcis par le formol, plutôt qu'à une transformation réelle de l'endotoxine même.

Il aurait donc été intéressant de prouver:

1) si, et en quelle mesure, l'endotoxine typhique libre se démontre sensible à l'action du formol;

2) quelles caractéristiques de résistance présentent les germes endurcis par le formol vis-à-vis de certains agents lytiques qui, en général, attaquent rapidement le protoplasma.

Pour résoudre le premier point, j'ai commencé par faire des recherches avec des lysats de germes obtenus moyennant de l'NaDH ou de la trypsine, et en outre aussi avec des autolysats dans de l'eau distillée. Je ne m'arrêterai pas sur ces expériences, n'ayant pas réussi à me procurer, de cette façon, des produits d'une toxicité suffisamment prononcée en petit volume.

---

(1) Forschungen und Fortschritte, n. 20, 10 juillet 1928.

J'ai alors eu recours à l'endotoxine libre obtenue par la méthode de Besredka. En voici les résultats:

	Endotoxine simple	Endotoxine formalinisée
avec 0,25 cc. succombés:	1 cobaye sur 4	1 cobaye sur 4
» 0,50 cc. »	1 » » 4	2 cobayes sur 4
» 0,75 cc. »	4 cobayes » 4	3 » » 4
» 1,00 cc. »	4 » » 4	4 » » 4

On peut facilement déduire, en se fondant sur ces données, que le formol a démontré de ne pas être apte à produire une diminution appréciable du degré de toxicité de l'endotoxine ayant servi à ces expériences. Peut-être, aurait-on pu fixer une différence moins prononcée en faveur de la partie formolée du produit, en augmentant le nombre des animaux inoculés et en fractionnant encore plus les doses intermédiaires, mais de toute façon on serait encore resté loin des limites de l'écart que l'on obtient si régulièrement dans les expériences analogues faites en employant les émulsions bactériennes.

Comportement des germes formolés vers les alcalis caustiques et vers la trypsine. — Pour les détails je renvoie au travail « in extenso »; je rappelle ici seulement que les germes des émulsions formalinisées au 0,4% ont démontré d'être pratiquement inattaquables par la trypsine, et très résistants à l'action de la soude et de la potasse caustiques, si bien qu'une concentration au 10% de ces substances et plusieurs heures de contact à 37°, sont nécessaires pour obtenir une lyse compléte.

Un fait est important; cette remarquable résistance des germes formolés vers les agents lytiques dont on s'est servi, s'est conservée pratiquement identique ou presque, même 10 mois après l'élimination du formol moyennant le lavage.

Pouvoir immunisant. — On a confronté deux quantités d'une émulsion à 15 milliards de germes par cc., dont l'une avait simplement été chauffée à 58° pendant une heure, et l'autre traitée au 0,4% avec de la formaline. Les préparations étaient agées de 3 mois, au moment de leur emploi: les inoculations ont été faites à des cobayes du poids de 350-400 grammes, par voie sous-cutanée. Sauf deux animaux, au 15.ème jour pas un seul a démontré la présence d'anticorps, en quantité appréciable, dans la circulation. Au 21ème jour ces mêmes animaux ont été soumis à l'inoculation endopéritonéale d'une ½ portée normale de culture sur gèlose de typhus, de 24 heures, correspondante à deux d. m. m.

Je résume ici brièvement les données des expériences. d'après les quelles il résulte avec evidence qu'il existe une concordance parfaite entre le pouvoir immunisant des deux parties, avec une légère supériorité, peut-être, en faveur de la partie formolée.

Quantité de vaccin inoculé	Vaccin simple		Vaccin formolé	
	Cobaye N.	Résultat de l'inoculation d'essai	Cobaye N.	Résultat de l'inoculation d'essai
1 milliard de germes	1	vivant	29	vivant
» »	2	»	30	»
» »	3	»	31	»
» »	4	»	32	»
500 millions de germes	5	vivant	33	† au 2ème jour
» »	6	† dans les 24 heures	34	† au 3ème jour
» »	7	vivant	35	vivant
» »	8	»	36	»
250 millions de germes	9	vivant	37	vivant
» »	10	»	38	»
» »	11	† dans les 24 heures	39	»
» »	12	vivant	40	»
100 millions de germes	13	vivant	41	vivant
» »	14	»	42	»
» »	15	»	43	»
» »	16	»	44	»
50 millions de germes	17	† dans les 24 heures	45	† dans les 24 heures
» »	—	—	46	vivant
» »	19	† dans les 24 heures	47	»
» »	20	»	48	† dans les 24 heures
25 millions de germes	21	»	49	vivant
» »	22	»	50	† dans les 24 heures
» »	23	»	51	»
» »	24	»	52	vivant
5 millions de germes	25	† dans les 24 heures	53	† dans les 24 heures
» »	26	»	54	»
» »	—	—	55	»
» »	28	† dans les 24 heures	—	—

Les 6 cobayes de contrôle inoculés en même temps ont tous succombés dans les 24 heures.

CONCLUSION.

a) La formaline ajoutée dans la proportion du 0,4 % à des émulsions de bacilles typhiques non excessivement concentrés (*maximum* 35 milliards par cc.), après un mois de contact à 37°, en a constamment réduit la toxicité à $\frac{1}{3}$. Cette limite n'a pu être modifiée utilement, ni en augmentant le pourcentage de la formaline (1 %), ni en lavant les germes avant de les soumettre à l'action du formol.

b) En séparant les germes de leur ambiant formolé et en les passant — après les avoir lavés — dans de la solution physiologique, on n'a pas remarqué (même après 12 mois) aucune tendance à une reprise de leur toxicité.

c) Le pouvoir toxique de l'endotoxine typhique libre préparée suivant

Besredka, a dèmontré de ne pas être influencé, en substance, par l'action de la formaline employée dans la mesure habituelle du 0,4%.

d) Il n'est pas improbable, dans les cas en question, que la diminution de toxicité des émulsions formolées, doive être, avant tout, attribuée à la grande lenteur avec laquelle les germes, durcis par le formol, sont désintégrés par l'organisme de l'animal. Cette hypothèse, émise jadis par Pfeiffer· semble être confirmée par mes observations sur l'énorme résistance que les germes, traités de cette façon, présentent vers l'action dissolvante des alcalis caustiques et de la trypsine. Il est connu, du reste, que c'est précisément avec le mécanisme de l'absorption lente que l'on a tâché de donner une explication de l'absence ou presque, de réactions locales et de troubles généraux à la suite d'inoculations de lipovaccins. Pour mieux prouver cette hypothèse il serait intéressant d'établir — et je tâche de le faire actuellement par des expériences en cours — si en obtenant à l'aide de différentes façons, non brutales, un degré de durcissement analogue des corps bactériens, leur toxicité en soit réduite en proportion.

e) Le pouvoir immunisant d'une émulsion de bacille typhiques formolinisée au 0,4% a démontré d'être égal — si ce n'est même un peu supérieur — à celui de la partie non formolée correspondante. Ce fait a été observé vers la fin du 3.ème mois à partir de la date de préparation des émulsions: il reste à prouver de quelle façon se comporte ce pouvoir lorsque les émulsions sont conservées encore plus longtemps.

Institut Sérothérapique de Milan.

PUCCIONI L. – **Le comportement des agglutinines et des agglutinogènes dans les grossesses et les accouchements.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Le but principal que je me suis proposé en entreprenant les recherches suivantes a été celui de voir si pendant l'état de grossesse puerpérale le pouvoir agglutinant du sérum et la sensibilité des globules à être agglutinés subissent des modifications dignes d'être notées. Sur ce sujet existent déjà des travaux, quelques-uns publiés il y a nombre d'années, lorsque les lois qui régissent l'individualité du sang n'étaient pas encore bien établies, d'autres de date très récente.

Parmi les premiers je veux rappeler les travaux de *Schenk* et de *Bolaffio*, parmi les derniers celui de *Schneeider*.

Dans l'exécution de mes recherches, devant essayer le pouvoir agglu-

tinant du sérum et l'agglutinabilité des globules dans les grossesses et les accouchements, j'ai tout d'abord cherché à obtenir des sérums textes des, groupes *A* et *B* dûment titrés; deuxièmement j'ai déterminé le groupe sanguin de beaucoup d'individus appartenant au personnel de la clinique de manière à pouvoir avoir toujours à disposition les globules rouges des mêmes individus pour essayer, sans erreur, le pouvoir agglutinant du sérum de différentes femmes enceintes et en accouchement.

Au point de vue de la technique suivie, j'indiquerai seulement qu'une fois déterminé le groupe sanguin de la femme enceinte, je procédais d'abord à la recherche du titre d'agglutinabilité des globules, en mettant ceux-ci en contact avec du sérum texte progressivement dilué (dilutions de 1: 5, 1: 10, 1: 15, 1: 20....1: 200, préparées en plaçant dans de petites éprouvettes avec le compte-gouttes, une goutte de sérum et 5, 10, 15, 20....200 de solution physiologique), et j'observais quelle était la dernière dilution de sérum avec laquelle il était possible d'obtenir une indication d'agglutination des globules. Pour déterminer, au contraire, la capacité agglutinante du sérum de la femme en examen, je faisais, avec la technique habituelle, des dilutions progressives de ce sérum, dans de petites éprouvettes, mélangeant ensuite de ce sérum avec des globules rouges d'individus appartenant à des groupes connus et capables d'être agglutinés par le sérum en observation. J'établissais ainsi à quel degré de dilution je pouvais encore observer une iso-agglutination. Les déterminations d'agglutination ont été toujours faites par l'examen microscopique à la température ambiante. L'examen a toujours été répété deux fois chez la même femme à savoir avant la grossesse ou pendant l'accouchement, puis pendant l'accouchement normal. Les femmes soumises à la recherche ont été globalement au nombre de 70. J'expose succinctement, ci-après, les résultats de mes recherches.

Dans le plus grand nombre des cas, 63 sur 70, c'est-à-dire sur 90% on a pu observer que pendant l'accouchement le pouvoir agglutinant du sérum était augmenté, ou la capacité des globules à être agglutinés, ou tous les deux étaient augmentés; dans 6 cas (8.57%) on put mettre en évidence une diminution dans l'une de ces propriétés ou dans les deux pendant l'accouchement. Considérant les femmes divisées suivant les quatre groupes sanguins, nous voyons ce qui suit:

Des 25 femmes appartenant au groupe *O*, 17 (58%) présentèrent une augmentation puerpérale du pouvoir agglutinant du sérum, soit quant aux globules du groupe *A* que du groupe *B*; 2 (8%) une augmentation du pouvoir agglutinant du sérum seulement quant aux globules du groupe *B*; en total donc, 21 sur 25 femmes, soit 84%, présentèrent une augmentation du pouvoir agglutinant du sérum pendant l'accouchement. Des 35 fammes appartenant au groupe *A*, 20 (57%) présentèrent au cours

de l'accouchement une augmentation soit du pouvoir agglutinant du sérum, soit de la sensibilité des globules à être agglutinés; 8 (22,8%) présentèrent une augmentation des agglutinogènes; 4 (11,4%) seulement des agglutinines. Des 7 femmes appartenant au groupe *B*, 6 eurent une augmentation puerpérale soit des agglutinines, soit des agglutinogènes; une eut les agglutinines sans variation et les agglutinogènes augmentés.

Chez les trois femmes du groupe *A-B* ou observa une augmentation dans la sensibilité des globules à être agglutinés soit par le sérum *A* comme par le sérum *B*.

Dans l'examen des différents cas subdivisés dans les divers groupes j'ai cherché à déduire également d'autres données importantes, à savoir si parmi les femmes du groupe *O*, l'augmentation puerpérale du pouvoir agglutinant du sérum a été plus marqué chez les globules *A* ou *B*; si chez les femmes appartenant aux groupes *A* et *B* on eut une augmentation puerpérale plus fréquente et marquée des agglutinines ou des agglutinogènes. Au sujet de la première question nous pouvons dire, que tout en n'existant pas une grande différence dans la capacité, du sérum à agglutiner les deux différentes espèces de globules, toutefois une activité plus marquée existe chez les globules *B*.

En effet tandis que l'augmentation moyenne puerpérale du pouvoir agglutinant du sérum *O* a été de 13,8 chez les globules *A*, il a été de 20,2 chez les globules *B*.

Chez les femmes appartenant au groupe *A* on a pu noter une augmentation puerpérale plus marquée des agglutinogènes que des agglutinines (26,4 augmentation moyenne des agglutinogènes, 15,1 des agglutinines). Une autre observation qui m'a semblée importante à déduire des résultats de mes recherches, a été de voir si l'époque plus ou moins avancée de l'accouchement n'a pas d'influence sur la détermination de variations plus ou moins grandes dans le pouvoir agglutinant du sérum et dans la sensibilité des globules à être agglutinés. J'ai pu ainsi établir, que dans la troisième journée de l'accouchement l'augmentation moyenne par rapport aux valeurs obtenues en grossesse, a été de 23,7 pour les agglutinines et de 33,3 pour les agglutinogènes; dans la 4.e journée de 33,4 pour les agglutinines et de 33,7 pour les agglutinogènes; dans la 5.e journée de 20 pour le pouvoir agglutinant du sérum, de 35 pour la sensibilité des globules à être agglutinés; dans la 6.e journée de 22,5 pour le sérum, de 35 pour les globules; dans la 7.e enfin de 15 pour le sérum et de 15 pour les globules. On peut donc affirmer que l'augmentation *maxima* des agglutinines et des agglutinogènes se vérifie dans la 4.e journée, c'est-à-dire à environ la moitié de la première semaine de l'accouchement, puis l'on observe une diminution jusqu'à atteindre les valeurs *minima* dans la 7.e journée.

Quant au comportement en grossesse et en accouchement du pouvoir agglutinant du sérum et de la sensibilité des globles à être agglutinés, chez des femmes atteintes de toxicoses de grossesse d'albuminurie, d'éclampsies, par rapport à des enceintes normales, je puis dire qu'à l'examen de chaque cas, je n'ai noté aucune différence substantielle.

***

Quelle interprétation faut-il donner aux résultats de ces recherches ?
Considérons d'abord l'augmentation du pouvoir aglutinant du sérum. Différentes hypothèses peuvent être formulées pour expliquer ce phénomène. On peut, tout d'abord, penser qu'il soit dû au retour à la règle de la constitution physico-chimique du sérum, constitution altérée comme on le sait par le fait de la grossesse. Ou bien que l'augmentation des agglutinines soit lié à l'absorption de matières dérivant de la désagrégation des tissus (utérus) propre à l'état puerpéral. Il s'agirait d'une réaction de défense de l'organisme en présence de la mise en circulation de matières en décomposition, en grande partie toxiques; le fait serait donc à placer parmi les phénomènes immunitaires. Cette hypothèse semblerait être confirmée par le fait que beaucoup d'A. ont trouvé exalté le pouvoir agglutinant du sérum dans le cours de maladies infectieuses (*Ascoli*, *Lomonaco*, *Schneider*, *Mino*).

Enfin on pourrait invoquer une autre hypothèse comme explication de l'augmentation des agglutinines dans l'accouchement. D'après de récentes recherches d'*Hirszfeld* et *Sborowsky*, le sang du cordon ombilical ne contient jamais d'anticorps de production foetale; lorsqu'ils sont présents ils proviennent de la mère; grâce à une perméabilité spécifique du placenta en présence des anticorps, passeraient seulement ceux qui sont incapables de réagir avec les globules rouges du foetus. Sur la base de ces données on pourrait donc penser que le pouvoir agglutinant du sérum dans la grossesse diminue pour l'une des raisons suivantes:

a) pour le passage d'agglutinines de la mère au foetus, lorsque ce passage est possible sans inconvénient pour le foetus;

b) en admettant que même dans des conditions déterminées physiologiques les isoanticorps puissent manquer;

c) le défaut d'anticorps maternels, capables de réagir avec le sang foetal, pourrait être dû à leur absorption *in vivo*.

Naturellement en admettant cette hypothèse, venant à cesser, pendant l'accouchement, ou le passage d'agglutinines de mère à foetus, ou les conditions qui favorisent l'absorption in vivum des agglutinines maternelles, on devrait constater une augmentation de celles-ci. Voulant toutefois

expliquer l'augmentation puerpérale des agglutinines suivant la théorie sus-indiquée, il faudrait constater que cette augmentation est *maxima* dans deux conditions opposées: à savoir lorsque le passage d'agglutinine de mère à foetus est possible et le sang foetal en est riche, ou bien lorsque les globules du foetus sont d'un groupe tel à absorber les agglutinines maternelles (certaines grossesses hétérospécifiques). J'ai recherché la marche du pouvoir agglutinant du sérum en accouchement, divisant les femmes en deux groupes et en plaçant dans le premier celles chez lesquelles le passage d'agglutinine de la mère au foetus était possible théoriquement; dans le second groupe au contraire celles chez lesquelles un passage éventuel d'agglutinine au foetus aurait pu donner lieu à une absorption in vivum. En procédant ainsi j'ai pu voir qu'il n'existe pas une différence substantielle dans l'augmentation puerpérale des agglutinines dans les deux catégories de femmes. J'ai pu observer, en outre, que les augmentations puerperales du pouvoir agglutinant du sérum n'ont pas été plus élevées dans les cas où il a été possible de conclure pour un passage, d'agglutinine de la mère au foetus, que dans ceux où l'on n'a pu mettre ce passage en évidence. C'est pourquoi je crois que l'augmentation des agglutinines que l'on observe fréquemment dans les accouchements doit être attribué, en partie, au retour à la règle des conditions physico-chimiques du sérum et, en partie, à une absorption de matières en décomposition provenant de l'utérus en voie d'involution puerpérale. Il est plus difficile, je ne dirai pas d'expliquer, mais même d'esquisser quelque hypothèse apte à interpréter l'augmentation habituelle des agglutinogènes que l'on observe dans l'accouchement. *Bolaffio*, dans son travail cité, indiquait l'hypothèse que cela fut dû aux altérations spéciales de la crase sanguine que l'on observe dans les premiers jours de l'accouchement (résistance globulaire diminuée, diminution du nombre des globules rouges et apparition en circulation cercle de formes juvéniles qui seraient plus facilement agglutinables). Je crois que l'hypothèse de *Bolaffio* mérite d'être prise en sérieuse considération.

NICOLETTI F. – **Rapports entre caractères anthropologiques et groupe sanguin, au point de vue héréditaire.**

En ce qui concerne la présente étude, il est intéressant de rappeler comment, d'après l'ensemble des nombreuses recherches faites à ce jour sur les groupes sanguins, on peut, au point de vue héréditaire, formuler, d'après *Lattes*, les conclusions suivantes:

a) que la transmission héréditaire du groupe sanguin est certaine;

b) que cette transmission a lieu en suivant une règle mendélienne et les propriétés isoagglutinables *A* et *B* jouent le rôle de caractères dominants;

c) que l'on doit considérer comme actuellement démontré que la transmission du g. s. a lieu au moyen de deux caractères allélomorphes, dont l'un provient du père et l'autre de la mère; les allélomorphes possibles sont au nombre de trois (allélomorphes multiples), dont la combinaison de deux à deux donne lieu à six groupes sanguins génotypiques.

Il en dérive que la transmission héréditaire du g. s. vient à représenter un des exemples les plus démonstratifs des lois héréditaires chez l'homme. Comme telle g. s. vient à constituer un important caractère constitutionnel et de race relativement à l'individu auquel il appartient.

Les recherches profondes, désormais effectuées sur une large échelle, démontrent clairement que l'on peut dire qu'il s'agit d'une véritable distribution anthropologique des propriétés groupe-spécifiques et que l'on peut établir des affinités ethmo-biochimiques entre les divers peuples.

Le g. s. prenant un caractère constitutionnel et héréditaire, on a cherché justement à établir des rapports entre celui-ci et d'autres caractères constitutionnels.

Ces recherches n'ont pas donné, quant à présent, des résultats univoques mais l'on voit leur importance pour étendre sur une large échelle cet ordre d'observations.

Récemment on a profondément étudié le rapport entre g. s. et réceptivité pour certaines maladies. Je ne m'attarderai pas à énumérer les nombreuses recherches qui ont été effectuées dans ce domaine, et qui, d'ailleurs, ont été minutieusement indiquées par *Lattes* dans son manuel sur l'« Individualité du sang », dernière édition (Masson Ed., 1929).

Je ne puis, toutefois, négliger de citer les rapports qui ont été trouvés entre les groupes sanguins et d'autres caractères anthropologiques.

L. et H. Hirschfeld, Weszeczki-Verzar, Dossena-Lanzara n'ont pu établir aucun rapport entre g. s. et les dimensions, le poids du corps, la couleur de la peau, le type constitutionnel.

Par contre Rietz a trouvé un clair rapport entre g. s. et la forme du crâne, constatant une prédominance du groupe *A* sur le groupe *B* chez les dolichocéphales par rapport aux mésaticéphales et aux brachiocéphales. Des rapports analogues ont été observés par Klein et Osthoff en Allemagne et par Rosenfeld en Russie; tandis que ces rapports n'ont pas été constatés par Seiros da Cunha au Portugal.

Romanese, en étudiant les Sardes, a constaté que le groupe *A* prévaut chez les blonds et les châtains par rapport aux bruns et chez les brachi océ céphaels par rapport aux dolichocéphales. Romanese, en attribuant le faible indice biochimique (*A* : *B*) des Sardes à la profonde infiltration

subie par la race méditerranéenne, a pu établir que par analogie aux rapports biochimiques, il existerait chez les Sardes des rapports anthropologiques avec la race méditerranéenne: il put en effet constater une prédominance de certaines caractères anthropologiques (cheveux bruns, dolichocéphalie, taille basse) propres à la race méditerranéenne, et il a pu, en outre, noter que l'indice bîochimique subit l'influence de ces caractères anthropologiques, en tant que chez les Sardes à caractères anthropologiques répondant au type méditerranéen il constata un indice biochimique beaucoup plus voisin de ce type que chez les Sardes ayant des caractères anthropologiques bien différents.

Moi-même, en étudiant la distribution des g. s. en Sicile, ayant pu observer que le faible indice biochimique observé était dû à la profonde infiltration de la race méditerranéenne africaine, j'ai pu établir qu'il existait de clairs rapports entre des caractères, anthropologiques déterminés (cheveux, crâne, nez, etc.), de la race méditerranéenne africaine et des Siciliens. J'ai pu noter, ainsi que Romanese, un indice biochimique faible chez les bruns et chez les dolichocéphales et un indice élevé chez les blonds.

Étudiant récemment quelques colonies Albanaises, immigrées depuis environ quatre siècles en Sicile, j'ai pu reconnaître combien celles-ci s'écartaient de la population Sicilienne, non seulement par la distribution des g. s. mais, egalement, par la distribution de caractères anthropologiques bien determinés, propres aux Siciliens.

De même Viola en étudiant les g. s. et quelques caractères anthropologiques, chez des individus appartenant à différentes régions d'Italie, a pu observer que l'indice biochimique est élevé chez les brachiocéphales blonds et châtains et chez les blonds dolichocéphales et brachiocéphales et qu'il est faible chez les dolichocéphales bruns et châtains et chez les bruns dolicho- et brachiocéphales.

De ce que nous avons exposé jusqu'ici il résulte clairement un rapport entre g. s. et caractères anthropologiques.

C'est dans le but de vouloir donner une plus grande valeur anthropologique au g. s. que j'ai cherché à entreprendre les recherches voulues, tendant à rechercher quels rapports peuvent exister, dans la transmission héréditaire des parents aux enfants, entre g. s. et caractères anthropologiques. J'ai cherché précisément d'*établir si un père donné, en transmettant à son fils son caractère dominant* (A, B), *transmet également des caractères anthropologiques déterminés et si, éventuellement, dans le cas positif, il subsiste une transmission héréditaire harmonique entre g. s. et caractères anthropologiques particuliers.*

En même temps, nous nous sommes préoccupés de *rechercher si les agglutinogènes transmis par les parents à leurs descendants présentaient, soit*

chez les uns ou chez les autres, un pouvoir d'agglutinabilité analogue vis-à-vis des mêmes sérums-texte.

Notre recherche a été effectuée sur cinquante familles et pour chaque individu nous avons cherché soit le groupe sanguin, avec la relative détermination du pouvoir d'agglutinabilité des éventuels agglutinogènes, soit tous les caractères anthropologiques somatiques qui sont plus facilement relevables et qui, d'ordinaire, se transmettent par hérédité.

Nous avons écarté à priori toutes les familles dont les parents étaient vieux ou dont les enfants n'avaient pas dépassé la période de l'enfance, en tant que chez les premiers les modifications anthropologiques survenues et, chez les autres, celles à venir, ne nous auraient pas permis d'émettre un jugement bien net de comparaison ou de ressemblance.

Nous avons écarté également toutes les familles dont les deux parents présentaient le même g. s. ou ne présentaient aucun caractère dominant (groupe *O*), attendu que manquant dans ces cas les points de comparaison pour l'un ou pour l'autre parent, il eut été impossible de tirer des déductions valables pour nos fins.

Pour la détermination du g. s. nous nous sommes servi de la méthode microscopique à goutte pendante, conseillée par *Lattes*, nous attenant à toutes les indications techniques fournies par l'Auteur, afin de ne pas tomber dans aucune cause d'erreur et par suite dans de fausses interprétations, lors de la lecture des résultats. Seulement dans quelques cas douteux on a déterminé les agglutinines avec les globules-texte, convenablement préparés du sang de personnes appartenant au groupe *A*, et au groupe *B*. Nous avons toujours employé les sérums-texte de l'Institut Sérothérapique Nationale, desquels, chaque fois, on essayait préalablement essayé le pouvoir agglutinant et dont chacun était essayé aussi bien avec les globules texte *A*, qu'avec les globules texte *B*. Ces sérums, dont nous n'avons qu'à nous louer, ont été employés à la dilution de 1 : 2 (une öse de sérum texte et une autre de suspension des globules rouges à examiner à 5%, en solution physiologique) et lorsqu'on eut l'isoréaction positive ils ont été employés dans les dilutions de 1 : 4; 1 : 16, 1 : 32, 1 : 64, . . . 1 : 256, 1 : 512, en ayant soin de les mélanger en parties égales avec la suspension globulaire à l'examen.

Des différents caractères anthropologiques nous avons soumis à l'étude pour chaque individu: 1) *Peau* (couleur, grains, signes particuliers; 2) *Main, doigts, reliefs papillaires, ongles* (racine, corps, extrémités libres, épaisseur, *flores ungueum;* 3) *Cheveux* (grosseur, abondance, forme: lisses, ondulés, bouclés, frisés, laineux ou crépus; couleur: noir absolu, brun foncé, châtain clair, blond jaunâtre, blond rougeâtre, blond cendré, blond très clair, rouge); 4) *Tête* (largeur *maxima* 100 : longueur *maxima* = Index céphalique — Dolichocéphalie et ultra-dolichocéphalie.

Ind. céph. = 77 — 72 et chiffres moindres; méso-céphalie et brachiocéphalie = Ind. céph. 78-83 et 84-89); 5) *Nez* (forme: droit, camus, aquilin, crochu; Index nasal céphalométrique = largeur *maxima* × 100: hauteur); 6) *Oreille* (caractères morphologiques concernant l'hélice, l'antihélice, la fossette scaphoïde, l'angle hélico-lobulaire, le lobe, le tragus, l'antitragus. Index auriculaire de Schwalbe = base de l'oreille, ou bien distance qui sépare l'insertion supérieure de celle inférieure × 100: pour la longueur considérée depuis la marge libre du tragus à la marge de l'hélice, où se développe ordinairement le tubercule de Darwin; 7) *Oeil* (grandeur de la rime palpébrale; caractères particuliers: mongoliques, gonflé, présence d'épicathus ou de poches au-dessous des paupières; couleur: noir, foncé, châtain, gris, bleu).

De l'ensemble des observations qu'il nous a été donné de faire, dans la minutieuse étude des différents individus appartenant aux cinquante familles soumises à l'examen, et enregistrées en détail dans les procès-verbaux des recherches, il résulterait que:

1) En général lorsqu'il existe la transmission héréditaire de nombreux caractères anthropologiques d'un seul parent à l'enfant (de telle sorte qu'on peut parler de suite de ressemblance frappante) existe également la transmission du groupe sanguin, à savoir du caractère dominant du parent à l'enfant.

2) Il peut, toutefois, y avoir la transmission héréditaire de beaucoup de caractères anthropologiques d'un parent à l'enfant sans que celui-ci en hérite de la structure biochimique dominante.

3) La transmission héréditaire du caractère dominant du g. s.; d'un individu à son descendant est toujours accompagnée de la transmission de quelques autres caràctères anthropologique-somatiques.

4) La transmission des caractères dominants (lorsque ceux-ci sont différents) des deux parents à leur enfant, est accompagnée de la transmission de caractères anthropologiques, d'une manière variée mais constante, de la parte des parents à leur descendant.

5) Parmi les caractères anthropologiques ceux qui, le plus fréquemment, se transmettent harmoniquement avec les structures biochimiques dominantes, sont les caractères inhérents aux cheveux et aux yeux.

6) Les caractéristiques morphologiques spéciales concernant des organes déterminés soumis à l'examen (par exemple, oreilles sessiles, en anse, tubercule de Darwin, nez trilobé, etc.), lorsqu'elles sont transmises par les parents à leurs descendants, ne semblent pas avoir d'importance en ce qui concerne la transmission simultanée des g. s.

En conclusion le caractère dominant du groupe sanguin se comporterait, au point de vue héréditaire, comme n'importe quel'autre caractère

anthropologique-somatique en tant qu'il peut ne pas être transmis sans que pour cela vienne à manquer la transmission des autres caractères anthropologiques ou exister même une ressemblance plutôt marquée. Par contre on vérifie toujours la transmission de quelques autres caractères anthropologiques (et, d'une manière spéciale, de caractères inhérents aux cheveux et aux yeux), lorsqu'en est transmise la caractéristique dominante du g. s.

Voilà ce qui a pu être constaté d'après notre matériel d'observation.

Un fait de l'importance la plus grande qui, quoiqu'étranger aux rapports étudiés jusqu'ici, a néammoins appartenance à l'hérédité des g. s. est la constatation que les agglutinogènes que les parents transmettent à leurs descendants présentent un pouvoir agglutinant très semblable au leur, par rapport aux sérums-texte: à un faible pouvoir d'agglutination des agglutinogènes du père ou de la mère correspond un faible pouvoir d'agglutination des mêmes agglutinogènes transmis à leurs descendants et vice-versa. Ce comportement biochimique particulier est résulté quelquefois parfaitement égal, spécialement à l'égard des divers descendants ayant des structures biochimiques dominantes égales.

Ces constatations, en contribuant à donner une plus grande valeur anthropologique au g. s., nous permettent d'entrevoir de nouveaux et importants facteurs, capables d'éclairer davantage le compliqué et difficile problème de l'identification personnelle et de la recherche de la paternité.

Direttore responsabile: Dr. Prof. A. Zironi.